



**BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria**

**REF** 3120019\_SEC01/ 3120019\_SEC02

FR (FRANÇAIS/FRENCH).....1  
EN (ENGLISH) .....15

**CONTENTS**

## BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria

PCR POUR LA DÉTECTION QUALITATIVE DE *PLASMODIUM SPP* ET L'IDENTIFICATION DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* À PARTIR D'ÉCHANTILLONS DE SANG TOTAL.

*Dispositif médical de diagnostic in vitro réservé à un usage professionnel.*

**REF** 3120019\_SEC01 / 3120019\_SEC02

### 1. DESTINATION

BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria est un test de diagnostic moléculaire *in vitro* pour la détection qualitative par PCR en temps réel des 5 espèces de Plasmodium - *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium knowlesi* (PAN) et l'identification de *Plasmodium falciparum* (FALCI). Ce test est une aide au diagnostic du paludisme réalisé en utilisant un extrait d'ADN issu d'un échantillon de sang total. Ce test non automatisé est destiné au diagnostic *in vitro* en laboratoire par des professionnels uniquement.

### 2. RÉSUMÉ CLINIQUE

Le paludisme (ou Malaria), est une maladie potentiellement mortelle, principalement propagée par des piqûres de moustiques femelle du genre *Anopheles*, infectées par un parasite du genre *Plasmodium*. Elle représente, en matière de santé publique, un problème à l'échelle mondiale : elle est l'une des premières endémies parasitaires avec un taux de mortalité élevé.<sup>1</sup>

Cinq espèces ont été identifiées comme étant pathogènes pour l'homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. knowlesi* et *P. malariae*. De ces espèces, *P. falciparum* a la plus forte prévalence (>80%)<sup>2</sup>. De plus, une infection par cette espèce nécessite un traitement dans les 24 heures après l'apparition des premiers symptômes pour empêcher la parasitose de progresser vers une forme grave, souvent mortelle. D'où l'importance d'un test d'identification spécifique et sensible de cette espèce. Le test BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria a été développé pour mettre en évidence une séquence commune à toute les espèce (PAN) et une séquence spécifique de *P. falciparum* (FALCI).

### 3. PRINCIPE DU TEST

Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria est un test de diagnostic *in vitro*, basé sur la technologie de PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel par hydrolyse de sondes fluorescentes. Le test consiste en une qPCR multiplex permettant l'amplification spécifique et la détection simultanée de cibles moléculaires portant les séquences d'intérêt : les séquences du gène de l'ARNr 18S des *Plasmodium spp* et de *Plasmodium falciparum*, ainsi que le contrôle interne, CIEZ, qui permet d'identifier toute inhibition de la PCR, excluant ainsi les résultats faux négatifs.

L'augmentation du signal de fluorescence est détectée seulement si la séquence cible complémentaire à la sonde amplifiée est présente dans l'échantillon et amplifiée. Le signal fluorescent est donc directement proportionnel à l'amplification de la cible pendant la phase d'amplification. La valeur Cq (cycle de quantification) correspond au nombre de cycles à partir duquel la fluorescence commence à augmenter de manière exponentielle différentiellement du bruit de fond.

Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria doit être utilisé avec des échantillons de sang total. Ce kit peut être utilisé avec des extraits d'ADN purifiés ou des échantillons traités avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis (Réf : 3150077).

#### 4. MATERIEL REQUIS

##### Matériel fourni :

- 1 microplaque 96-puits sécable préremplie avec le Master mix
- 1 tube de contrôle positif (CONTROL +, bouchon rouge)
- 1 tube de contrôle négatif (CONTROL -, bouchon vert)
- 1 sachet de barrettes de bouchons optiques.

##### Matériel nécessaire mais non fourni :

- Kit d'extraction d'ADN
- Gants non poudrés à usage unique
- Pipettes et pointes à filtres
- Centrifugeuse pour microplaque ou microtubes PCR
- Vortex
- Thermocycleur pour PCR en temps réel.

Le thermocycleur PCR utilisé pour le test doit posséder les caractéristiques suivantes :

- Système ouvert
- Tests de PCR quantitatifs en temps réel
- Bloc de thermocyclage programmable

Reference	Bloc de thermocyclage
3120019_SEC01	0.1mL low-profile
3120019_SEC02	0.2mL high-profile

- Source d'excitation : LEDs, lampe ou laser
- Jeux de filtres (longueurs d'onde d'excitation/émission) adaptés à la détection des fluorophores « reporter » des sondes FAM, HEX et Cy5.
- Connexion avec un ordinateur utilisant un logiciel spécifique d'analyse permettant la récupération des données de fluorescence, la conduite des essais de quantification absolue, et l'interprétation des résultats.

Le kit a été développé et validé avec les thermocycleurs de PCR en temps réel suivants :

- CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (BioRad)
- CFX96 Opus™ Real-Time PCR Detection System (BioRad)
- QuantGene 9600 (Bioer)
- LightCycler480 (Roche)
- QuantStudio5™ System (Applied Biosystems)
- ViiA™ 7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems).

Si un autre thermocycleur est utilisé, veuillez réaliser votre propre validation de BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria avant d'utiliser le test. Nous recommandons d'utiliser des échantillons qualifiés ainsi que les contrôles négatif et positif fournis dans le kit.

#### 5. PRÉCAUTIONS

- Suivre attentivement les instructions d'utilisation. Le non-respect d'une instruction de cette notice d'utilisation peut affecter la performance du test et entraîner des conséquences néfastes.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoire et porter des gants de laboratoire non poudrés à usage unique durant toute la procédure du test.
- La gestion quotidienne de nombreux échantillons et la grande sensibilité de la technique PCR peuvent, en l'absence de précautions, générer des faux positifs par contamination. Les opérations de pré-manipulation de la PCR, de post-PCR et d'extraction d'ADN doivent donc être effectuées dans des pièces séparées. Porter des gants jetables dans chaque zone et les changer avant de passer d'une zone à l'autre.

- Le test et les bouchons sont à usage unique. Ne pas les réutiliser. Ne pas ouvrir les tubes PCR à la fin du test.
- Ne pas utiliser le test si le film de scellage en aluminium est ouvert ou endommagé. Une fois le film retiré, utiliser le test immédiatement.
- Ne pas utiliser le kit s'il est arrivé décongelé.
- Ne pas utiliser le kit en cas de dommage ou de fuite. Si seul l'emballage est endommagé et qu'il n'y a pas de fuite, le kit reste utilisable.
- Garder le kit à l'abri de la lumière.
- Centrifuger les tubes avant de les ouvrir, les ouvrir un par un en veillant à les refermer correctement avant de passer à un autre tube pour éviter toute contamination.
- Le contrôle positif (CONTROL+) contient des quantités importantes de séquences d'ADN. Il peut donc potentiellement contaminer les autres composants du kit si les bonnes pratiques de biologie moléculaire ne sont pas respectées. Pour limiter ce risque de contamination, il est recommandé de stocker ce composant à l'extérieur du kit après la première utilisation.
- Les contrôles négatifs et positifs inclus dans le kit reproduisent les résultats obtenus avec des échantillons négatifs ou positifs respectivement. Ils doivent être utilisés à chaque test réalisé.
- Afin de s'assurer qu'il n'y a pas de contamination lors des manipulations, il est laissé à l'utilisateur le soin d'inclure dans sa démarche qualité interne, à la fréquence choisie, un puits de contrôle négatif supplémentaire dans lequel 8µL d'eau de qualité biologique moléculaire est ajouté au Master mix.
- Lors de l'utilisation de contrôles négatifs et positifs avec une série de patients, il est recommandé de déposer d'abord le contrôle négatif, puis les échantillons de patients et de finir par le dépôt du contrôle positif.
- Jeter les éléments souillés ou les composants vides du kit dans une poubelle adaptée aux déchets biologiques. Tenez compte de la réglementation locale en matière d'élimination des déchets biologiques.
- Le dispositif contient du matériel d'origine bactérienne ou animale et doit donc être manipulé avec précaution.
- Si, en relation avec l'utilisation d'un kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria, un décès ou une détérioration grave de l'état de santé survient, alors il convient de le signaler au fabricant et à l'autorité compétente de votre pays. En cas de doute, signalez-le.
- Fiche de données de sécurité disponible sur demande. Un résumé de la sécurité et des performances sera disponible en ligne sur Eudamed.

## 6. CONSERVATION DU KIT

Le kit est expédié congelé. Les composants du kit doivent arriver congelés. Conserver le kit à une température inférieure ou égale à -20°C. Dans ces conditions, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du kit. Ne pas utiliser le kit ni aucun de ses composants après la date de péremption. Protéger le kit et les réactifs de la lumière directe.

Le produit peut subir 15 cycles de congélation/décongélation sans que la durée de conservation et les qualités du produit ne soient altérées.

## 7. RECUEIL ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria permet l'amplification de l'ADN de *Plasmodium* sur échantillons de sang total. L'échantillon de sang total doit être prélevé dans un tube EDTA ou hépariné.

Le test peut être effectué en utilisant un extrait d'ADN purifié ou un échantillon traité avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis (ref : 3150077).

Le transport des échantillons cliniques doit être conforme aux réglementations locales en matière de transport d'agents infectieux.

Les échantillons de sang peuvent être conservés jusqu'à 7h à température ambiante entre +21°C et +30°C et jusqu'à 5 jours à +4°C avant d'être traités. Les échantillons peuvent être conservés pendant 3 ans à -20°C. Les cycles répétés de congélation/décongélation de l'échantillon doivent être évités (un cycle maximum est autorisé).

Les échantillons de sang, après traitement avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis, peuvent être conservés jusqu'à 7 jours entre +4°C et +30°C ou jusqu'à 3 mois entre -20°C et -80°C avant d'être testés.

## 8. PROCEDURE DU TEST

### Extraction des acides nucléiques

L'extraction d'acides nucléiques doit être réalisée avant le protocole d'amplification à l'aide d'un système d'extraction approprié (non fourni dans le kit). Veuillez suivre les instructions d'utilisation du fabricant.

Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria a été validé pour les kits d'extractions suivants :

- BIOSYNEX Blood Lysis - Reference 3150077 (Biosynex)
- QIAamp DNA Blood Mini kit - Reference 51106 (Qiagen)
- QIAamp DNA mini kit - Reference 51306 (Qiagen)
- NucleoMag Dx Pathogen - Reference 744215.4 (Macherey Nagel)
- Whole blood genomic DNA/RNA extraction reagent kit - Reference MTQB036 (Singuway)
- MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I - Reference 03 003 990 001 (Roche).

Si une autre méthode ou un autre kit d'extraction d'ADN est utilisé, veuillez effectuer votre propre méthode de validation de BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria avant d'utiliser le test (ne pas utiliser les contrôles fournis avec le test).

Il n'est pas nécessaire d'extraire les contrôles positifs et négatifs avec le kit d'extraction des acides nucléiques.

### Protocole d'amplification

Les échantillons décongelés doivent être homogénéisés doucement avant d'effectuer le test. Retirer et décongeler uniquement le nombre de barrettes de Master mix requises.

1. Prendre le nombre de barrettes ou de puits nécessaire. Si moins d'une barrette complète de 8 puits est nécessaire, il est possible de couper la barrette horizontalement à l'aide d'une paire de ciseaux.
2. Centrifuger les barrettes pendant quelques secondes pour recueillir les gouttelettes sur les bords des puits ou sur l'opercule.
3. Retirer avec précaution le film en aluminium et le jeter. Une fois le film retiré, utiliser la barrette dans les 2 heures à température ambiante (+21°C ±2°C) ou dans les 16 heures à +4°C.
4. Ajouter 8µL d'échantillon ou de contrôle.
5. Fermer les puits avec les bouchons transparents fournis.
6. Centrifuger les barrettes pendant quelques secondes.
7. Placer-les barrettes dans le thermocycleur et démarrez le programme d'amplification suivant :

Etape	Répétitions	Température	Durée	Acquisition
Activation de la Taq	1x	95°C	3 min	-
Dénaturation	50x	94°C	10 sec	-
Hybridation / élongation		60°C	20 sec	oui

Entrer 20 µL de volume réactionnel dans le programme du thermocycleur.

Veuillez-vous référer au mode d'emploi du thermocycleur utilisé quant aux informations nécessaires à la programmation.

Réglage des canaux de détection :

Cible	Fluorochrome
<i>Plasmodium spp</i> (PAN)	HEX
<i>Plasmodium falciparum</i> (FALCI)	FAM
Contrôle interne (IC)	Cy5

## 9. INTERPRETATION DES RESULTATS

### A. Critères de validation de l'essai

#### Contrôle négatif :

La fluorescence émise doit être en-dessous du seuil (Threshold), hormis pour le canal Cy5. C'est un indicateur d'amplification non-spécifique. Si la fluorescence dépasse le seuil, vérifier la présence d'une courbe atypique. Dans le cas d'une courbe d'amplification, une contamination ou une erreur de distribution dans les microtubes est à envisager. Seul le contrôle interne CIEZ devrait être amplifié.

#### Contrôle positif :

La valeur du contrôle positif doit être détectée préférentiellement avant 30 cycles ( $Cq \leq 30$ ). En l'absence d'amplification d'un contrôle positif, l'existence d'un problème d'amplification ou de détection de fluorescence (thermocycleur défectueux ou instrument non adapté à la méthode) devrait être envisagée.

#### Contrôle interne d'amplification :

Le contrôle interne exogène CIEZ permet de s'assurer que les enzymes présentes dans le Master mix sont fonctionnelles. En effet, une courbe d'amplification du contrôle interne CIEZ doit être observée dans le canal Cy5. La valeur du contrôle interne devrait idéalement être détectée dans les 35 cycles ( $Cq \leq 35$ ).

Néanmoins, deux situations d'absence d'amplification du contrôle interne peuvent être observées :

- Si les gènes cibles sont présents initialement dans l'échantillon à un nombre élevé de copies, le contrôle interne peut ne pas être amplifié. Ce résultat est normal et n'invalide pas le test. Il doit être interprété comme un résultat positif malgré l'absence de signal du contrôle interne. Ce phénomène est le résultat d'une compétition de l'amplification entre le contrôle interne et la cible présente à un nombre élevé de copies
- Si les gènes cibles dans les canaux FAM et HEX ne sont pas amplifiés et qu'il n'y a pas d'amplification du contrôle interne dans le canal Cy5, alors aucun résultat ne peut pas être rendu. Cette situation met en évidence la présence d'inhibiteurs de la PCR. La PCR doit être réitérée en repartant de l'échantillon primaire et sur extrait d'ADN préférentiellement.

### B. Interprétation qualitative (positif ou négatif)

Les signaux supérieurs au seuil (threshold) **et étant visuellement conformes à une courbe classique d'amplification en PCR** sont considérés comme des résultats positifs. Certains échantillons peuvent présenter des courbes atypiques qui ne sont pas caractéristiques de courbes d'amplification. Dans ce cas, il ne faut pas considérer le résultat comme interprétable et l'analyse de l'échantillon doit être renouvelée en incluant des puits contenant les contrôles.

Canaux de détection			Interpretation
HEX (PAN)	FAM (FALCI)	Cy5 (Contrôle interne)	
+	+	+	Patient présentant un ADN spécifique de <i>Plasmodium falciparum</i> et pouvant également avoir un statut de co-infection
+	+	-	
+	-	+	
+	-	-	Patient présentant un ADN de <i>Plasmodium spp</i> autre qu'un ADN de <i>P. falciparum</i>
-	-	+	Patient sans ADN spécifique de l'une des 5 espèces de <i>Plasmodium spp</i> détectables ;
-	-	-	Résultat non valide : mauvaise qualité de l'échantillon, inhibition de la réaction PCR ou problèmes au cours de l'exécution ou durant le processus du test – effectuer un nouveau test ou un autre échantillonnage.

## 10. PERFORMANCES

- Sensibilité analytique**

La limite de détection (LoD) du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria est définie comme la concentration qui peut être détectée à au moins 95% sur un échantillon spécifique d'ADN de *Plasmodium*.

### Limite de détection sur les échantillons d'ADN extraits :

La LoD<sub>95</sub> sur l'ADN extrait du standard de l'OMS est exprimée en UI/μL. Cet ADN quantifié provenant du NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) est le premier standard international de l'OMS pour les techniques d'amplification de l'acide nucléique de l'ADN de *Plasmodium falciparum* (Code NIBSC : 04/176).

L'ADN quantifié des autres espèces de *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*) n'étant pas disponible sur le marché, la LoD<sub>95</sub> n'a pas pu être évaluée pour ces espèces.

La LoD<sub>95</sub> de BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria sur l'ADN extrait a été déterminée statistiquement pour chaque séquence génétique ciblée. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Cible	LoD <sub>95</sub>
FALCI (FAM)	1.55466801 UI/μL (1554.66801 UI/mL)
PAN (HEX)	0.48978936 UI/μL (489.78936 UI/mL)

### Limite de détection sur les échantillons traités avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis :

Les LoDs ont été déterminées en effectuant une série de dilutions du standard de l'OMS avec une concentration connue en UI/μL, traité avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis.

L'ADN quantifié des autres espèces de *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*) n'étant pas disponible sur le marché, les LoD<sub>95</sub> n'ont pas pu être évaluées pour ces espèces.

La LoD<sub>95</sub> de BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria sur l'ADN traité avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis a été déterminée statistiquement pour chaque séquence génétique ciblée. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Cible	LoD <sub>95</sub>
FALCI (FAM)	71.744765 UI/μL (71 744.765 UI/mL)
PAN (HEX)	26.028150 UI/μL (26 028.150 UI/mL)

- Spécificité analytique**

La sélection des oligonucléotides (amorces et sondes) a été validée *in silico* par alignement BLAST. La comparaison des séquences obtenues montre une détection spécifique de l'ensemble des espèces de *Plasmodium spp* et de *Plasmodium falciparum*. Aucune homologie de séquence n'a été observée avec

de l'ADN génomique humain ou d'autres pathogènes. Les différentes espèces de *Plasmodium* ont été testées afin de s'assurer de la spécificité du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria.

Un panel de sangs totaux négatifs a été testé. Aucun signal n'a été détecté dans les canaux FAM (séquence FALCI) et HEX (séquence PAN). Le contrôle interne était valide dans tous les tests.

Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria n'a détecté aucun signal positif pour les agents pathogènes suivants :

Détection d'ADN			
Espèces testées	FAM - FALCI	HEX - PAN	Cy5 - Contrôle interne
<i>Babesia microti</i>	-	-	+
<i>Babesia divergens</i>	-	-	+
<i>Toxoplasma gondii</i>	-	-	+
<i>Leishmania sp</i>	-	-	+
Hepatitis C virus	-	-	+
Hepatitis B virus	-	-	+
HIV 1	-	-	+
HIV 2	-	-	+
Dengue virus	-	-	+
<i>Borrelia sp</i>	-	-	+

Un panel de 79 échantillons d'ADN provenant d'une biobanque a été testé avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria. Pour l'ensemble de ces échantillons, aucune amplification des séquences d'ADN cible n'a été observée.

ADN		
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	<i>Enterococcus faecium (VanA)</i>	<i>Mycobacterium ulcerans</i>
<i>Adenovirus</i>	<i>Epstein-Barr Virus</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>
<i>Adenovirus 41</i>	<i>Escherichia coli (EAEC)</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Escherichia coli (EIEC)</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli (ETEC)</i>	<i>Neisseria meningitidis Sg A</i>
<i>Bartonella henselae</i>	<i>Escherichia coli (VTEC)</i>	<i>Neisseria meningitidis Sg B</i>
<i>Bartonella Quintana</i>	<i>Francisella tularensis</i>	<i>Neisseria meningitidis Sg C</i>
<i>Bk Virus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Papillomavirus type 16</i>
<i>Bordetella holmesii</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Papillomavirus type 18</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Parvovirus B19 (Plasmid)</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Rickettsia conorii</i>
<i>Borrelia afzelii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Borrelia garinii</i>	<i>Herpes simplex 1</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Herpes simplex 2</i>	<i>Staphylococcus aureus (MecA-)</i>
<i>Brucella abortus</i>	<i>Hhv-6</i>	<i>Staphylococcus aureus (MecA+)</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Hhv-8</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae (NDM-1)</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Candida auris</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Leishmania chagasi</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Leishmania infantum</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Varicella-Zoster Virus</i>
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus faecalis (VanB)</i>		



• **Etude d'interférence**

Les échantillons de sang total collectés dans des tubes héparinés ou EDTA n'interfèrent pas avec la réaction PCR lorsque le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria est utilisé avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis.

Des tests d'interférences sur des sangs totaux aux paramètres hématologiques ou biochimiques anormaux sur le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria ont été réalisés à l'aide d'échantillons sanguins négatifs spikés ou non avec un ADN génomique quantifié de *P. falciparum* provenant de l'ATCC.

Aucune interférence n'a été démontrée pour les paramètres hématologiques et biochimiques suivants :

- Bilirubine  $\leq 158,6$  mg/L
- Triglycérides  $\leq 8,29$  g/L
- Leucocytes  $\leq 13\ 880$  cellules/m<sup>3</sup>
- Erythrocytes  $\leq 6\ 300\ 000$  cellules/m<sup>3</sup>

A ce jour, nos études cliniques sur des échantillons avec du sang n'ont pas montré d'interférence sur les résultats.

• **Précision**

Les données de précision du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria ont été déterminées en se basant sur les conditions suivantes :

- Variabilité intra-essai (au sein d'une même série de tests)
- Variabilité inter-essais (entre deux séries de tests indépendantes)
- Variabilité inter-opérateurs (entre des opérateurs différents)
- Variabilité inter-laboratoires (entre des sites différents)
- Variabilité inter-lots (entre des lots de réactifs différents)

Les données de variabilité sont exprimées en termes de valeur moyenne, d'écart type et de coefficient de variation, sur la base des valeurs de cycle seuil de quantification (Cq) de l'ADN *Plasmodium falciparum*.

**Variabilité intra-essai :**

Trois dilutions du standard international de *Plasmodium falciparum* de l'OMS ou d'un ADN génomique commercial pour *P. knowlesi* ou d'un ADN extrait d'un échantillon de sang total positif pour *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* ont été testées : une forte (+++), une moyenne (++) et une faible (+), ainsi qu'un échantillon négatif (-).

Chaque échantillon a été testé 30 fois.

*ADN extrait*

Cv= Coefficient de variation

Échantillons	Échantillon négatif								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ		
	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon -	N/A	-	-	N/A	-	-	27.1	0.2	0.8
Échantillons	Plasmodium falciparum								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ		
	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon +++	23.0	0.1	0.5	22.9	0.1	0.3	28.9	0.7	2.5
Échantillon ++	30.0	0.1	0.3	29.8	0.1	0.2	27.0	0.2	0.7
Échantillon + (FALCI)	37.1	0.7	1.9	36.8	0.4	1.0	27.1	0.2	0.7
Échantillon + (PAN)	En dessous de la LoD			38.6	0.6	1.5	27.0	0.2	0.7

<i>Plasmodium malariae</i>									
FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ			
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon +++	N/A	-	-	26.7	0.1	0.3	27.2	0.4	1.5
Échantillon ++	N/A	-	-	31.1	0.1	0.3	27.1	0.2	0.7
Échantillon +	N/A	-	-	38.2	0.7	1.7	27.2	0.2	0.6
<i>Plasmodium ovale</i>									
FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ			
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon +++	N/A	-	-	24.2	0.1	0.3	27.9	0.9	3.2
Échantillon ++	N/A	-	-	31.0	0.1	0.3	26.8	0.2	0.9
Échantillon +	N/A	-	-	37.9	0.4	1.2	26.9	0.2	0.7
<i>Plasmodium vivax</i>									
FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ			
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon +++	N/A	-	-	28.9	0.1	0.3	27.2	0.4	1.3
Échantillon ++	N/A	-	-	32.4	0.1	0.3	27.4	0.2	0.8
Échantillon +	N/A	-	-	39.3	0.7	0.7	27.3	0.3	1.3
<i>Plasmodium knowlesi</i>									
FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ			
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon +++	N/A	-	-	28.5	0.2	0.6	26.7	0.1	0.4
Échantillon ++	N/A	-	-	31.5	0.1	0.3	27.3	0.1	0.5
Échantillon +	N/A	-	-	39.5	0.5	1.3	27.4	0.1	0.5

Pré-traitement avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis :

<i>Échantillon négatif</i>									
FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ			
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon -	N/A	-	-	N/A	-	-	27.2	0.2	0.7
<i>Plasmodium falciparum</i>									
FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ			
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon +++	26.4	0.1	0.4	26.1	0.0	0.2	26.9	0.2	0.9
Échantillon ++	31.0	0.1	0.3	30.7	0.1	0.3	27.0	0.2	0.7
Échantillon + (FALCI)	37.6	0.6	1.5	37.3	0.4	1.0	26.9	0.2	0.6
Échantillon + (PAN)	<i>En dessous de la LoD</i>			38.9	0.6	1.6	27.0	0.2	0.7
<i>Plasmodium malariae</i>									
FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ			
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon ++	N/A	-	-	32.1	0.1	0.2	27.5	0.4	1.4
Échantillon +	N/A	-	-	37.4	0.6	1.7	27.4	0.1	0.5

<i>Plasmodium ovale</i>									
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ		
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon +++	N/A	-	-	28.5	0.1	0.2	27.2	0.2	0.7
Échantillon ++	N/A	-	-	31.1	0.1	0.2	27.0	0.2	0.6
Échantillon +	N/A	-	-	37.8	0.5	1.4	27.2	0.2	0.7

<i>Plasmodium vivax</i>									
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Contrôle interne CIEZ		
Échantillons	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne	Ecart type	Cv %
Échantillon ++	N/A	-	-	30.7	0.1	0.3	27.4	0.5	1.9
Échantillon +	N/A	-	-	37.6	0.3	0.9	27.3	0.2	0.7

#### Variabilité inter-essai :

Deux dilutions d'échantillon du standard international de l'OMS de *Plasmodium falciparum* ont été testées : une forte (+++) correspondant à 2 500 copies/μL et une faible (+) correspondant à 3x LoD<sub>95</sub>. Chaque échantillon est testé en double chaque jour, pendant 5 jours. L'échantillon négatif donne des résultats négatifs.

Cibles	+++			+		
	Valeur Cq moyenne ech. +++	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne ech. +	Ecart type	Cv %
FAM - FALCI	27.3	0.0	0.2	38.8	0.6	1.5
HEX - PAN	26.4	0.1	0.5	37.9	0.3	0.8
Cy5 – Contrôle interne	26.7	0.1	0.4	26.8	0.1	0.5

#### Variabilité inter-opérateurs :

Deux dilutions d'échantillon du standard international de l'OMS de *Plasmodium falciparum* ont été testées : une forte (+++) correspondant à 2 500 copies/μL et une faible (+) correspondant à 3x LoD<sub>95</sub>. Chaque échantillon est testé en double, par deux opérateurs différents. L'échantillon négatif donne des résultats négatifs.

Cibles	+++			+		
	Valeur Cq moyenne ech. +++	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne ech. +	Ecart type	Cv %
FAM - FALCI	27.3	0.1	0.4	39.2	0.2	0.4
HEX - PAN	26.5	0.0	0.1	38.0	0.5	1.4
Cy5 – Contrôle interne	26.8	0.1	0.3	26.9	0.1	0.5

#### Variabilité inter-laboratoires :

Deux dilutions d'échantillon du standard international de l'OMS de *Plasmodium falciparum* ont été testées : une forte (+++) correspondant à 2 500 copies/μL et une faible (+) correspondant à 3x LoD<sub>95</sub>. Chaque échantillon est testé en double, par le même opérateur dans deux laboratoires différents. L'échantillon négatif donne des résultats négatifs.

Cibles	+++			+		
	Valeur Cq moyenne ech. +++	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne ech. +	Ecart type	Cv %
FAM - FALCI	27.4	0.2	0.7	39.0	0.0	0.1
HEX - PAN	26.4	0.1	0.2	37.8	0.2	0.5
Cy5 – Contrôle interne	26.8	0.0	0.0	26.7	0.1	0.5

### Variabilité inter-lots :

Deux dilutions d'échantillon de l'étalon international de l'OMS de *Plasmodium falciparum* ont été testées : une forte (+++) correspondant à 2 500 copies/ $\mu$ L et une faible (+) correspondant à 3x LoD<sub>95</sub>. Chaque échantillon est testé en double, avec trois lots différents. L'échantillon négatif donne des résultats négatifs.

Cibles	+++			+		
	Valeur Cq moyenne ech. +++	Ecart type	Cv %	Valeur Cq moyenne ech. +	Ecart type	Cv %
FAM - FALCI	27.4	0.3	1.1	38.8	0.3	0.8
HEX - PAN	26.5	0.1	0.3	38.2	0.2	0.5
Cy5 – Contrôle interne	27.0	0.2	0.9	27.0	0.2	0.8

### • Performances cliniques

Les performances cliniques ont été déterminées sur 416 échantillons pour l'extraction/purification d'ADN avec un kit commercial et sur 149 échantillons pour les échantillons traités avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis.

Ensemble des échantillons de toutes les études pour l'extraction/purification d'ADN avec un kit commercial :

	Nombre d'échantillons	Qualification par rapport à la Malaria					
		Echantillons négatifs	Echantillons positifs				
			<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	Co-Infections
Etude 1	67	0	31	13	15	10	2
Etude 2	93	0	93	0	0	0	0
Etude 3	100	100	0	0	0	0	0
Etude 4	48	10	34	0	2	2	0
Etude 5	108	108	0	0	0	0	0
Total	416	218	158	13	17	12	2

Ensemble des échantillons de toutes les études pour les échantillons traités avec le lot BIOSYNEX Blood Lysis :

	Nombre d'échantillons	Qualification par rapport à la Malaria					
		Echantillons négatifs	Echantillons positifs				
			<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	Co-Infections
Etude 4	41	10	27	0	2	2	0
Etude 5	108	108	0	0	0	0	0
Total	149	118	27	0	2	2	0

Le tableau de contingence ci-dessous reprend les performances du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria sur des échantillons après extraction/purification de l'ADN à l'aide d'un kit commercial :

		Qualification de l'échantillon par rapport à <i>Plasmodium spp</i>	
		Positif	Négatif
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positif	198	0
	Négatif	0	218

**Sensibilité : 100.00%** (95%IC : 98.15% à 100.00%)      **Spécificité : 100.00%** (95%IC : 98.32% à 100.00%)

Le tableau de contingence ci-dessous reprend les performances du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria sur des échantillons traités avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis :

		Qualification de l'échantillon par rapport à <i>Plasmodium spp</i>	
		Positif	Négatif
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positif	31	0
	Négatif	0	118

**Sensibilité : 100.00%** (95%IC : 88.78% à 100.00%)      **Spécificité : 100.00%** (95%IC : 96.92% à 100.00%)

Le tableau de contingence ci-dessous reprend les performances du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria sur des échantillons spécifiques de *Plasmodium falciparum* après extraction/purification de l'ADN à l'aide d'un kit commercial :

		Qualification de l'échantillon par rapport à <i>Plasmodium falciparum</i>	
		Positif	Négatif
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positif	158	0
	Négatif	0	260

**Sensibilité : 100.00%** (95%IC : 97.69% à 100.00%)      **Spécificité : 100.00%** (95%IC : 98.59% à 100.00%)

Le tableau de contingence ci-dessous reprend les performances du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria sur des échantillons spécifiques de *Plasmodium falciparum* traités avec le kit BIOSYNEX Blood Lysis :

		Qualification de l'échantillon par rapport à <i>Plasmodium falciparum</i>	
		Positif	Négatif
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positif	27	0
	Négatif	0	122

**Sensibilité : 100.00%** (95%IC : 87.23% à 100.00%)      **Spécificité : 100.00%** (95%IC : 97.02% à 100.00%)

Pour cette étude, nous n'avons pas eu accès à des échantillons cliniques de patients positifs à *P. knowlesi* (échantillons rares). Les performances du kit pour cette espèce ont été validées en utilisant un ADN synthétique.





















## 11. LIMITES

1. Le non-respect de l'une des instructions de cette notice peut nuire aux performances du test et/ou invalider le résultat du test.
2. La possibilité d'obtenir des résultats faussement positifs ou faussement négatifs ne peut être exclue (par exemple, en cas de contamination accidentelle, en cas de mauvaise qualité de l'échantillon ou si la procédure de test n'est pas correctement suivie). Comme pour tous les tests de diagnostic, les résultats doivent être considérés avec les autres informations cliniques dont dispose le praticien.

## 12. BIBLIOGRAPHIE

1. World Health Organization (WHO) Malaria Fact Sheets 29 March 2023. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
2. ECDC Surveillance Report: Malaria, Annual Epidemiology Report for 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/malaria-annual-epidemiological-report-2021>

## 13. SYMBOLES INTERNATIONAUX

	Consulter la notice d'utilisation ou la notice d'utilisation électronique		Contient suffisamment pour <n> tests
	Référence catalogue		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Contrôle positif		Contrôle négatif
	Limites de température		Date de péremption
	Fabricant		Numéro de lot
	Mandataire suisse		Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation
	Master Mix		Sachet de barrette de bouchons
	Garder à l'abri de la lumière		Importateur
	Ne pas réutiliser		Microplaque
	Identifiant unique du dispositif		Détection qualitative par PCR

## 14. INFORMATIONS FABRICANT



**BIO SYNEX S.A.**  
 22 boulevard Sébastien Brant  
 67400 ILLKIRCH-  
 GRAFFENSTADEN – France  
 Standard:  
 Tel : +33 3 88 78 78 87  
[www.biosynex.com](http://www.biosynex.com)  
 Contacts France :  
 Tel. : +33 3 88 77 57 00  
[service.clients@biosynex.com](mailto:service.clients@biosynex.com)  
 Contacts autres pays :  
 Tel. : +33 3 88 77 57 52  
[sales@biosynex.com](mailto:sales@biosynex.com)  
 Service Après-Vente :  
 Tel. : +33 3 88 77 57 25  
[tech.support@biosynex.com](mailto:tech.support@biosynex.com)



**BIO SYNEX SWISS S.A.**  
 Route de Rossemaison 100  
 2800 DELEMONT - Switzerland

## 15. HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Version de notice	Paragraphe modifié	Détail du changement
V1	Intégralité de la notice	Conformité avec l'IVDR 2017/746 et format multi-langues
V2	Page de garde	Ajout du sommaire.
	6 : Conservation du kit	Modification « Conserver le kit à une température inférieure ou égale à -20°C ».
	7 : Recueil et conservation des échantillons	Modification « Les échantillons peuvent être conservés pendant 3 ans à -20°C »
	8 : Procédure du test	Suppression « MagPurix Blood DNA Extraction kit - Reference ZP02001 (Zinexts LifeScience Corp) ».
	10 : Performances	Ajout des résultats de l'étude d'interférences sur des sangs totaux aux paramètres hématologiques ou biochimiques anormaux.
	11 : Limites	Reformulation de la limite n°2.
	15 : Historique des modifications	Ajout du paragraphe.
V3	10 : Performances	Variabilité inter-lots : Revue des valeurs

## BIOSYNEX AMPLIQUICK MALARIA

PCR FOR THE QUALITATIVE DETECTION OF *PLASMODIUM SPP* AND IDENTIFICATION OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* FROM WHOLE BLOOD SAMPLES.

*In vitro* diagnostic medical device for professional use.

**REF** 3120019\_SEC01/ 3120019\_SEC02

### 1. INTENDED PURPOSE

BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria is a molecular *in vitro* diagnostic test for the qualitative detection by qPCR of 5 Plasmodium species - *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* and *Plasmodium knowlesi* (PAN) and identification of *Plasmodium falciparum* (FALCI). The test is an aid for the diagnosis of Malaria performed using a DNA extract obtained from whole blood sample. This non-automated test is intended for *in vitro* diagnostic use in laboratory by professionals only.

### 2. CLINICAL SUMMARY

Malaria is a life-threatening disease mostly spreads to people through the bites of some infected female *Anopheles* mosquitoes of the genus *Plasmodium*. It represents a global public health concern: being one of the first parasitic endemic species with a high mortality rate.<sup>1</sup> Five species have been identified as human pathogens: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. knowlesi* and *P. malariae*. Among these species, *P. falciparum* has the large highest prevalence (>80%).<sup>2</sup> In addition, an infection by this species requires treatment within 24 hours after the first symptoms appear, to prevent the parasitosis moving towards a serious, sometimes fatal form. This explains the importance of a specific and sensitive identification test for this species. The BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria test was developed to highlight a *Plasmodium spp* core-genome (PAN) sequence and a specific sequence of *P. falciparum* (FALCI).

### 3. TEST PRINCIPLE

The BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit is an *in vitro* diagnostic test, based on real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) technology by fluorescent probe hydrolysis. The assay consists of a multiplex qPCR allowing the specific amplification and simultaneous detection of molecular targets carrying the sequences of interest: the 18S rRNA gene sequences from *Plasmodium spp* and *Plasmodium falciparum*, as well as the internal control, CIEZ, which allows to identify any PCR inhibition, thus excluding false negative results.

The increase in fluorescence signal is only detected if the target complementary sequence to the fluorescent probe is present in the sample and amplified. The fluorescent signal is therefore directly proportional to the amplification of the target during the amplification phase. The Cq value (quantification cycle) corresponds to the number of cycles at which the fluorescence starts to increase exponentially in contrast to the background noise.

The BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit must be used with whole blood samples. This kit can be used with purified DNA extracts or samples treated with the BIOSYNEX Blood Lysis kit (ref 3150077).



#### 4. REQUIRED MATERIAL

**Material provided:**

- 1 divisible 96-wells microplate prefilled with the Master mix
- 1 tube of positive control (CONTROL+, red cap)
- 1 tube of negative control (CONTROL-, green cap)
- 1 bag of optical cap strips.

**Material required but not provided:**

- DNA extraction kit
- Powder-free disposable gloves
- Pipettes and filtered tips
- PCR microplate or microtubes centrifuge
- Vortex mixer
- qPCR Thermal Cycler

The PCR thermal cycler used for the test must have the following main characteristics:

- Open system
- Real-time quantitative PCR assays
- Programmable Thermal Cycler block

Reference	Thermal cycling block
3120019_SEC01	0.1mL low profile
3120019_SEC02	0.2mL high profile

- Excitation source: LEDs, lamp or laser
- Filter sets (excitation/emission wavelengths) suitable for the detection of "reporter" fluorophores of the FAM, HEX and Cy5 probes.
- Connection with a computer using specific analysis software that allow the recovery of fluorescence data, absolute quantification assays, and the interpretation of results.

The kit has been developed and validated with the following real-time PCR thermal cyclers:

- CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (BioRad)
- CFX96 Opus™ Real-Time PCR Detection System (BioRad)
- Quant Gene 9600 (Bioer)
- LightCycler480 (Roche)
- QuantStudio5 System (Applied Biosystems)
- ViiA™ 7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems).

If another thermal cycler is used, please perform your own validation of BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria before using the test. We recommend using qualified samples and the negative and positive controls provided in the kit.

#### 5. PRECAUTIONS

- Carefully follow these instructions for use. Failure to follow any instruction of this IFU may adversely affect the test performance and have harmful consequences.
- Follow Good Laboratory Practice and wear powder-free laboratory disposable gloves throughout the test procedure.
- The daily management of many samples and the high sensitivity of the PCR technique can, in the absence of precaution, generate false positive results by contamination. Pre-handling PCR, post-PCR and DNA extraction should therefore be performed in separate rooms. Wear disposable gloves

in each zone and change them before moving from one zone to another.

- The test and cap are for single use only. Do not reuse. Do not open the PCR tubes at the end of the test.
- Do not use the test if aluminum foil is opened or damaged. Once the aluminum foil is removed, use the test immediately.
- Do not use the kit if it arrived unfrozen.
- Do not use the kit in case of breakage or leakage. In the event of damage to the packaging only (no breakage or leakage), the kit remains usable.
- Protect the kit from light.
- Centrifuge the tubes before opening, opening them one after the other by closing them well between each one to avoid any contamination.
- The positive control (CONTROL+) contains significant amounts of DNA sequences. It can therefore potentially contaminate the other components of the kit if good molecular biology practices are not followed. To limit this risk of contamination, it is recommended to store this component outside the kit at the first opening of the kit.
- The negative and positive controls included in the kit mimic results obtained with negative or positive samples respectively. They must be used with each new run.
- To ensure that there is no contamination during handling, it is left to the user to include as part of their internal quality approach, at the frequency chosen, an additional negative control well in which 8µL of molecular biology grade water are added to the Master mix.
- When using negative and positive controls with a series of patients, it is recommended to first deposit the negative control, then deposit the patient samples and finish with the deposit of the positive control.
- Dispose of soiled parts or empty kit components in a trash bin suitable for biological waste. Consider your local regulation on biological waste disposal.
- The device contains material of bacterial or animal origin and should be handled with caution.
- If, in relation to the use of BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria, a death or a serious deterioration of health has occurred, this should be reported to the manufacturer and the competent authority of your country. If in doubt, report it.
- Safety data sheet available on request. Summary of safety and performance will be available online on Eudamed.

## 6. KIT STORAGE

The kit is shipped frozen. Kit components must arrive frozen. Store the kit at a temperature of -20°C or below. Under these conditions, the reagents are stable until the expiry date indicated on the kit label. Do not use the kit and any of its components after the expiry date. Protect the kit and the reagents from direct light.

The product can undergo 15 freeze/thaw cycles without the shelf-life and qualities of the product are altered.

## 7. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria allows the amplification of *Plasmodium* DNA from whole blood samples. The whole blood sample should be collected in EDTA or heparinized tube.

The test can be performed using purified DNA extract or sample treated with the BIOSYNEX Blood Lysis (ref 3150077).

The transport of clinical samples must comply with local regulations for the transport of infectious agents.

Blood samples can be stored up to 7h between +21°C and +30°C, and up to 5 days at +4°C before being processed. Samples can be stored for 3 years at -20°C. Repeated freeze/thaw cycles of the sample should be avoided (a maximum of 1 cycle is allowed).

Blood samples, after treatment with the BIOSYNEX Blood Lysis kit, can be stored up to 7 days between +4°C and +30°C or up to 3 months between -20°C and -80°C before being tested.

## 8. TEST PROCEDURE

### Extraction of nucleic acids

The nucleic acids extraction must be performed before the amplification protocol using a suitable extraction system (not provided within the kit). Please follow the manufacturer's instructions for use.

The BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit has been validated with the following extraction kits:

- BIOSYNEX Blood Lysis - Reference 3150077 (Biosynex)
- QIAamp DNA Blood Mini kit - Reference 51106 (Qiagen)
- QIAamp DNA mini kit - Reference 51306 (Qiagen)
- NucleoMag Dx Pathogen - Reference 744215.4 (Macherey Nagel)
- Whole blood genomic DNA/RNA extraction reagent kit - Reference MTQB036 (Singuway)
- MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I - Reference 03 003 990 001 (Roche).

If another DNA extraction method or kit is used, please perform your own validation method of BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria before using the test (do not use the controls provided).

It is not necessary to extract the positive and negative controls with the nucleic acid extraction kit.

### Amplification protocol

Thawed samples should be gently homogenized before performing the test. Remove and defrost only the required number of Master mix strips.

1. Take one breakable plate and take the number of strips required. If less than a whole strip of 8 wells is needed, the strip can be cut horizontally using a pair of scissors.
2. Centrifuge the strips for a few seconds to collect any droplets on the well edges or on the seal.
3. Carefully remove and discard the aluminum foil. Once the aluminum foil is removed, use the strip within 2 hours at room temperature (+21°C ±2°C) or within 16 hours at +4°C.
4. Add 8 µL of sample or control.
5. Close the wells with the transparent caps provided.
6. Centrifuge the strips for a few seconds.
7. Place the strips in the thermal cycler and run the following amplification program:

Step	Repetitions	Temperature	Duration	Acquisition
Taq Activation	1x	95°C	3 min	-
Denaturation	50x	94°C	10 sec	-
Hybridation / Elongation		60°C	20 sec	yes

Enter 20 µL of reaction volume into the Thermal Cycler program. Please refer to the operating instructions of the Thermal Cycler used for programming information.

Setting the detection channels:

Target	Fluorochrome
<i>Plasmodium spp</i> (PAN)	HEX
<i>Plasmodium falciparum</i> (FALCI)	FAM
Internal control (IC)	Cy5

## 9. DATA ANALYSIS AND INTERPRETATION OF RESULTS

### A. Trial Validation Criteria

#### **Negative control:**

The fluorescence emitted must be below the threshold except for the Cy5 channel. This is an indicator of non-specific amplification. If the fluorescence is above the threshold, check for an atypical curve. In the case of an amplification curve, contamination, or a distribution error in the microtubes is to be considered. Only the internal control CIEZ should be amplified.

#### **Positive control:**

The value of the positive control should preferably be detected before 30 cycles ( $Cq \leq 30$ ). In the absence of amplification of the positive control, the existence of an amplification or fluorescence detection problem (defective thermal cycler or instrument non-adapted to the method) should be considered.

#### **Internal amplification control:**

The exogenous internal control CIEZ ensures that the enzymes in the Master mix are functional. Indeed, the amplification curve of the CIEZ internal control should be observed in the Cy5 channel. The internal control value should ideally be detected within 35 cycles ( $Cq \leq 35$ ). Nevertheless, two situations of lack of amplification of the internal control can be observed:

- If the target genes are initially present in the sample with a high number of copies, the internal control may not be amplified. This result is consistent and does not invalidate the test. It should be interpreted as a positive result despite the lack of signal from the internal control. This phenomenon is the result of amplification competition between the Internal Control and targets present at high copy numbers.
- If the target genes in the HEX and FAM channels are not amplified, as well as the internal control in the Cy5 channel, then no result can be rendered. This situation highlights the presence of PCR inhibitors. PCR should be repeated starting from the primary sample and preferably on DNA extract.

### B. Qualitative interpretation (positive or negative)

Signals above the threshold, **and visually consistent with a classical PCR amplification curve**, are considered positive results. Some samples may show atypical curves that are not characteristic of amplification curves. In this case, the result should not be considered as interpretable, and the analysis of the sample must be repeated with the controls.

Detection channels			Interpretation
HEX (PAN)	FAM (FALCI)	Cy5 (Internal Control)	
+	+	+	Patient with <i>Plasmodium falciparum</i> specific DNA and may also have co-infection status
+	+	-	
+	-	+	Patient with <i>Plasmodium spp</i> other than <i>P. falciparum</i> DNA
+	-	-	
-	-	+	Patient without specific DNA of any of the 5 detectable <i>Plasmodium spp</i> species
-	-	-	Invalid result: poor sample quality, inhibition of PCR reaction, or problems during run or test process - perform a new test or re-sampling

## 10. PERFORMANCES

- Analytical sensitivity**

The detection limit (LoD) of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit is defined as the concentration that can be detected at 95% at least on a specific *Plasmodium* DNA sample.

### Detection limits on extracted DNA samples:

The LoD<sub>95</sub> on the WHO Standard extracted DNA is expressed in IU/μL. This quantified DNA from NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) is the first WHO International Standard for *Plasmodium falciparum* DNA Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 04/176).

Quantified DNA of the other *Plasmodium* species (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* and *P. knowlesi*) are not available on the market, therefore the LoD<sub>95</sub> could not be assessed for those species.

The LoD<sub>95</sub> of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria on extracted DNA have been statistically determined for each targeted gene sequence. Results are given in the table below.

Target	LoD <sub>95</sub>
FALCI (FAM)	1.55466801 IU/μL (1554.66801 IU/mL)
PAN (HEX)	0.48978936 IU/μL (489.78936 IU/mL)

### Detection limits for samples treated with the BIOSYNEX Blood Lysis kit:

The LoDs were determined by performing a series of dilutions of the WHO Standard with a known concentration IU/μL treated with the BIOSYNEX Blood Lysis kit.

Quantified DNA of the other *Plasmodium* species (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* and *P. knowlesi*) are not available on the market, therefore the LoD<sub>95</sub> could not be assessed for those species.

The LoD<sub>95</sub> of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria on DNA treated with BIOSYNEX Blood Lysis has been statistically determined for each targeted gene sequence. Results are given in the table below.

Target	LoD <sub>95</sub>
FALCI (FAM)	71.744765 IU/μL (71 744.765 IU/mL)
PAN (HEX)	26.028150 IU/μL (26 028.150 IU/mL)

- Analytical specificity**

The design of oligonucleotides (primers and probes) was validated *in silico* by BLAST alignment. The comparison of the sequences obtained shows a specific detection of all species of *Plasmodium spp.* and *Plasmodium falciparum*. No sequence homology was observed with human genomic DNA or other pathogens.

The different species of *Plasmodium* have been tested to ensure the specificity of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit.

A panel of negative whole blood samples was tested. No signals were detected in the FAM and HEX channels. Internal control was valid in all tests.

The BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit showed no positive signals with all the following pathogens:

Tested species	DNA detection		
	FAM - FALCI	HEX - PAN	Cy5 -Internal Control
<i>Babesia microti</i>	-	-	+
<i>Babesia divergens</i>	-	-	+
<i>Toxoplasma gondii</i>	-	-	+
<i>Leishmania sp</i>	-	-	+
<i>Hepatitis C virus</i>	-	-	+
<i>Hepatitis B virus</i>	-	-	+
<i>HIV 1</i>	-	-	+
<i>HIV 2</i>	-	-	+
<i>Dengue virus</i>	-	-	+
<i>Borrelia sp</i>	-	-	+

A panel of 79 DNA samples from a biobank was tested with the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit. For all these samples, no amplification of the target DNA sequences was observed.

DNA		
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	<i>Enterococcus faecium (VanA)</i>	<i>Mycobacterium ulcerans</i>
<i>Adenovirus</i>	<i>Epstein-Barr Virus</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>
<i>Adenovirus 41</i>	<i>Escherichia coli (EAEC)</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Escherichia coli (EIEC)</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli (ETEC)</i>	<i>Neisseria meningitidis Sg A</i>
<i>Bartonella henselae</i>	<i>Escherichia coli (VTEC)</i>	<i>Neisseria meningitidis Sg B</i>
<i>Bartonella Quintana</i>	<i>Francisella tularensis</i>	<i>Neisseria meningitidis Sg C</i>
<i>Bk Virus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Papillomavirus type 16</i>
<i>Bordetella holmesii</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Papillomavirus type 18</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Parvovirus B19 (Plasmid)</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Rickettsia conorii</i>
<i>Borrelia afzelii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Borrelia garinii</i>	<i>Herpes simplex 1</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Herpes simplex 2</i>	<i>Staphylococcus aureus (MecA-)</i>
<i>Brucella abortus</i>	<i>Hhv-6</i>	<i>Staphylococcus aureus (MecA+)</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Hhv-8</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae (NDM-1)</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Candida auris</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Leishmania chagasi</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Leishmania infantum</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Varicella-Zoster Virus</i>
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus faecalis (VanB)</i>		

#### • Interference study

Whole Blood samples collected in Heparin or EDTA tubes do not interfere with the PCR reaction when the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit is used with the BIOSYNEX Blood Lysis kit.

Whole blood interference tests with abnormal haematological or biochemical parameters on the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit were performed using negative blood samples spiked or not with quantified *P. falciparum* genomic DNA from the ATCC. No positive or negative interference was demonstrated for the following haematological and biochemical parameters:

- Bilirubin  $\leq 158,6$  mg/L
- Triglycerides  $\leq 8,29$  g/L
- Leukocytes  $\leq 13\ 880$  cells/m<sup>3</sup>
- Erythrocytes  $\leq 6\ 300\ 000$  cells/m<sup>3</sup>

To this date, our clinical studies on samples with blood have not shown any interference on the results.

#### • Precision

The precision data in the context of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit was determined based on following conditions:

- Intra-assay variability (within one test run)
- Inter-assays variability (between different test runs)

- Inter-operators variability (between different operators)
- Inter-laboratory variability (between different locations)
- Inter-lots variability (between different batches)

The variability data are expressed in terms of mean value, standard deviation and coefficient of variation, based on the threshold cycle of quantification (Cq) values of the *Plasmodium Falciparum* DNA.

#### Intra-assay variability data:

Three dilutions of the WHO International Standard for *Plasmodium falciparum* or from a commercial genomic DNA for *P. knowlesi* or from an extracted DNA from a positive whole blood samples for *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae* were tested: one high (+++), one medium (++) and one low (+), as well as a negative sample (-).

Each sample was tested 30 times.

#### Extracted DNA

Cv= Coefficient of variation

Negative Sample									
Samples	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample -	N/A	-	-	N/A	-	-	27.1	0.2	0.8
Plasmodium falciparum									
Samples	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample +++	23.0	0.1	0.5	22.9	0.1	0.3	28.9	0.7	2.5
Sample ++	30.0	0.1	0.3	29.8	0.1	0.2	27.0	0.2	0.7
Sample + (FALCI)	37.1	0.7	1.9	36.8	0.4	1.0	27.1	0.2	0.7
Sample + (PAN)	Below LoD			38.6	0.6	1.5	27.0	0.2	0.7
Plasmodium malariae									
Samples	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample +++	N/A	-	-	26.7	0.1	0.3	27.2	0.4	1.5
Sample ++	N/A	-	-	31.1	0.1	0.3	27.1	0.2	0.7
Sample +	N/A	-	-	38.2	0.7	1.7	27.2	0.2	0.6
Plasmodium ovale									
Samples	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample +++	N/A	-	-	24.2	0.1	0.3	27.9	0.9	3.2
Sample ++	N/A	-	-	31.0	0.1	0.3	26.8	0.2	0.9
Sample +	N/A	-	-	37.9	0.4	1.2	26.9	0.2	0.7
Plasmodium vivax									
Samples	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample +++	N/A	-	-	28.9	0.1	0.3	27.2	0.4	1.3
Sample ++	N/A	-	-	32.4	0.1	0.3	27.4	0.2	0.8
Sample +	N/A	-	-	39.3	0.7	0.7	27.3	0.3	1.3

Samples	<i>Plasmodium knowlesi</i>								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample +++	N/A	-	-	28.5	0.2	0.6	26.7	0.1	0.4
Sample ++	N/A	-	-	31.5	0.1	0.3	27.3	0.1	0.5
Sample +	N/A	-	-	39.5	0.5	1.3	27.4	0.1	0.5

Pre-treatment with BIOSYNEX Blood Lysis kit

Samples	<i>Negative Sample</i>								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample -	N/A	-	-	N/A	-	-	27.2	0.2	0.7

Samples	<i>Plasmodium falciparum</i>								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample +++	26.4	0.1	0.4	26.1	0.0	0.2	26.9	0.2	0.9
Sample ++	31.0	0.1	0.3	30.7	0.1	0.3	27.0	0.2	0.7
Sample + (FALCI)	37.6	0.6	1.5	37.3	0.4	1.0	26.9	0.2	0.6
Sample + (PAN)	<i>Below LoD</i>			38.9	0.6	1.6	27.0	0.2	0.7

Samples	<i>Plasmodium malariae</i>								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample ++	N/A	-	-	32.1	0.1	0.2	27.5	0.4	1.4
Sample +	N/A	-	-	37.4	0.6	1.7	27.4	0.1	0.5

Samples	<i>Plasmodium ovale</i>								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample +++	N/A	-	-	28.5	0.1	0.2	27.2	0.2	0.7
Sample ++	N/A	-	-	31.1	0.1	0.2	27.0	0.2	0.6
Sample +	N/A	-	-	37.8	0.5	1.4	27.2	0.2	0.7

Samples	<i>Plasmodium vivax</i>								
	FAM - FALCI			HEX - PAN			Internal control CIEZ		
	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %	Average Cq value	Standard deviation	CV %
Sample ++	N/A	-	-	30.7	0.1	0.3	27.4	0.5	1.9
Sample +	N/A	-	-	37.6	0.3	0.9	27.3	0.2	0.7

**Inter-assays variability data:**

Two sample dilutions of the *Plasmodium falciparum* WHO Standard were tested: one high (+++) corresponding to 2 500 copies/μL and one low (+) corresponding to 3x LoD<sub>95</sub>. Each sample is tested in duplicate each day, for 5 days. Negative sample give negative results.



Targets	+++			+		
	Average Cq value sample +++	Standard deviation	Coefficient of variation %	Average Cq value sample +	Standard deviation	Coefficient of variation %
FAM - FALCI	27.3	0.0	0.2	38.8	0.6	1.5
HEX - PAN	26.4	0.1	0.5	37.9	0.3	0.8
Cy5 – Internal Control	26.7	0.1	0.4	26.8	0.1	0.5

#### Inter-operators variability data:

Two sample dilutions of the *Plasmodium falciparum* WHO Standard were tested: one high (+++) corresponding to 2 500 copies/μL and one low (+) corresponding to 3x LoD<sub>95</sub>.

Each sample is tested in duplicate, by two different operators.

Negative sample give negative results.

Targets	+++			+		
	Average Cq value sample +++	Standard deviation	Coefficient of variation %	Average Cq value sample +	Standard deviation	Coefficient of variation %
FAM - FALCI	27.3	0.1	0.4	39.2	0.2	0.4
HEX - PAN	26.5	0.0	0.1	38.0	0.5	1.4
Cy5 – Internal Control	26.8	0.1	0.3	26.9	0.1	0.5

#### Inter-laboratory variability data:

Two sample dilutions of the *Plasmodium falciparum* WHO Standard were tested: one high (+++) corresponding to 2 500 copies/μL and one low (+) corresponding to 3x LoD<sub>95</sub>.

Each sample is tested in duplicate, by the same operator in two different laboratories.

Negative sample give negative results.

Targets	+++			+		
	Average Cq value sample +++	Standard deviation	Coefficient of variation %	Average Cq value sample +	Standard deviation	Coefficient of variation %
FAM - FALCI	27.4	0.2	0.7	39.0	0.0	0.1
HEX - PAN	26.4	0.1	0.2	37.8	0.2	0.5
Cy5 – Internal Control	26.8	0.0	0.0	26.7	0.1	0.5

#### Inter-lots variability data:

Two sample dilutions of the *Plasmodium falciparum* WHO Standard were tested: 1 high (+++) corresponding to 2 500 copies/μL and 1 low (+) corresponding to 3x LoD<sub>95</sub>.

Each sample is tested in duplicate, on three different lots.

Negative sample give negative results.

Targets	+++			+		
	Average Cq value sample +++	Standard deviation	Coefficient of variation %	Average Cq value sample +	Standard deviation	Coefficient of variation %
FAM - FALCI	27.4	0.3	1.1	38.8	0.3	0.8
HEX - PAN	26.5	0.1	0.3	38.2	0.2	0.5
Cy5 – Internal Control	27.0	0.2	0.9	27.0	0.2	0.8

- Clinical performances**

The clinical performances were determined on 416 samples for the DNA extraction/purification with a commercial kit and on 149 samples for samples treated with BIOSYNEX Blood Lysis kit.

Total samples from all studies for DNA extraction/purification with a commercial kit:

	Number of Samples	Malaria Qualification					
		Negative Samples	Positive Samples				
			<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	Co-Infections
Study 1	67	0	31	13	15	10	2
Study 2	93	0	93	0	0	0	0
Study 3	100	100	0	0	0	0	0
Study 4	48	10	34	0	2	2	0
Study 5	108	108	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>416</b>	<b>218</b>	<b>158</b>	<b>13</b>	<b>17</b>	<b>12</b>	<b>2</b>

Total samples from all studies for samples treated with BIOSYNEX Blood Lysis kit:

	Number of Samples	Malaria qualification					
		Negative Samples	Positive Samples				
			<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	Co-Infections
Study 4	41	10	27	0	2	2	0
Study 5	108	108	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>149</b>	<b>118</b>	<b>27</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>

The contingency table below shows the performance of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit on samples after DNA extraction/purification with a commercial kit:

		Sample qualification <i>Plasmodium spp</i>	
		Positive	Negative
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positive	198	0
	Negative	0	218

**Sensitivity: 100.00%**      **Specificity: 100.00%**  
 (95%CI: 98.15% to 100.00%)      (95%CI: 98.32% to 100.00%)

The contingency table below shows the performance of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria on samples treated with BIOSYNEX Blood Lysis kit:

		Sample qualification <i>Plasmodium spp</i>	
		Positive	Negative
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positive	31	0
	Negative	0	118

**Sensitivity: 100.00%**      **Specificity: 100.00%**  
 (95%CI: 88.78% to 100.00%)      (95%CI: 96.92% to 100.00%)

The contingency table below shows the performance of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria kit on *Plasmodium falciparum* specific samples after DNA extraction/purification with a commercial kit:

		Sample qualification <i>Plasmodium falciparum</i>	
		Positive	Negative
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positive	158	0
	Negative	0	260

**Sensitivity: 100.00%** (95%CI: 97.69% to 100.00%)      **Specificity: 100.00%** (95%CI: 98.59% to 100.00%)

The contingency table below shows the performance of the BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria on *Plasmodium falciparum* specific samples treated with BIOSYNEX Blood Lysis kit:

		Sample qualification <i>Plasmodium falciparum</i>	
		Positive	Negative
BIOSYNEX AMPLIQUICK Malaria	Positive	27	0
	Negative	0	122

**Sensitivity: 100.00%** (95%CI: 87.23% to 100.00%)      **Specificity: 100.00%** (95%CI: 97.02% to 100.00%)

For this study, we did not have access to clinical samples from patients positive for *P. knowlesi* (rare samples). The performances of the kit for that species were validated using synthetic DNA.





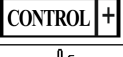















## 11. LIMITATIONS

1. Failure to follow any instruction of the IFU may adversely affect the test performance and/or invalidate the test result.
2. The possibility of obtaining false positive or false negative results cannot be ruled out (e.g. in case of accidental contamination, in case of poor quality of the sample or in case the test procedure is not correctly followed). As with all diagnostic tests, results must be considered with other clinical information available to the physician.

## 12. LITERATURE

1. World Health Organization (WHO) Malaria Fact Sheets 29 March 2023. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
2. ECDC Surveillance Report: Malaria, Annual Epidemiology Report for 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/malaria-annual-epidemiological-report-2021>

## 13. INTERNATIONAL SYMBOLS

	Consult instructions for use or electronic instructions for use		Contains sufficient for <n> tests
	Catalogue number		<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Positive control		Negative control
	Temperature limits		Use-by-date
	Manufacturer		Batch code
	Authorized representative in Switzerland		Do not use if package is damaged and consult the instructions for use
	Master Mix		Bag of strips of caps
	Keep away from sunlight		Importer
	Do not reuse		Microplate
	Unique Device Identifier		Qualitative detection by PCR

## 14. MANUFACTURER INFORMATION



### BIOSYNEX S.A.

22 boulevard Sébastien Brant  
67400 ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN  
France

#### Standard:

Phone: +33 3 88 78 78 87

[www.biosynex.com](http://www.biosynex.com)

#### Contacts France:

Phone: +33 3 88 77 57 00

[service.clients@biosynex.com](mailto:service.clients@biosynex.com)

#### Contacts other countries:

Phone: +33 3 88 77 57 52

[sales@biosynex.com](mailto:sales@biosynex.com)

#### Customer service

Phone : +33 3 88 77 57 25

[tech.support@biosynex.com](mailto:tech.support@biosynex.com)



### BIOSYNEX SWISS S.A.

Route de Rossemaison 100  
2800 DELEMONT - Switzerland

## 15. HISTORY

Record version	Amended paragraph	Change details
V1	Entire IFU	Compliance with IVDR 2017/746 and multi-language format;
V2	Contents	Addition of the summary.
	6: Kit storage	Change « Store the kit at a temperature of -20°C or below.»
	7: Sample collection and storage	Change « Samples can be stored for 3 years at -20°C. »
	8: Test procedure	Removal « MagPurix Blood DNA Extraction kit - Reference ZP02001 (Zinexts LifeScience Corp)»
	10: Performances	Addition of results on blood interference tests with abnormal haematological or biochemical parameters.
	11: Limitations	Rewording of limitation No.2.
	15 : Modifications history	Creation of this paragraph.
V3	10 : Performances	Inter-lots variability data: Review of values