

VISITECT® MALARIA COMBO PAN / Pf ^{Ref} OD206

Test rapide pour la détermination de *P. falciparum*,
Non *falciparum* ou infections mixtes dans le sang.
Stocker entre 4°C et 30°C. NE PAS CONGELER.
Usage in vitro uniquement.

INTRODUCTION ET INDICATIONS

Le paludisme est causé par un parasite protozoaire du genre *Plasmodium*. Chez les humains, le paludisme est, essentiellement, causé par *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. vivax*.

P. falciparum est la cause la plus commune d'infection et l'espèce la plus sévère et la plus mortelle. La période d'incubation, d'apparition des symptômes et durée de l'attaque varient selon l'espèce et selon le niveau d'immunité de l'individu. Une détection et une différenciation précoce du paludisme est donc d'une importance capitale due à la fréquence de neuropaludisme et à la résistance aux drogues associées.

VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. Détermine une infection paludique en détectant la pLDH spécifique d'une infection à *Plasmodium* relargué par les globules rouges. D'autre part **VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf.** détermine une infection spécifique à *P. falciparum* par la détection spécifique de (Pf HRP-2), une protéine spécifique d'espèce, soluble dans l'eau qui est relarguée par les érythrocytes d'individus infectés.

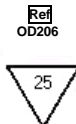
VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. est un test rapide qualitatif, de type double sandwich immunoenzymatique pour la détection de pLDH et Pf HRP-2 sur échantillons de sang total.
Test à usage professionnel.

PRINCIPE DU TEST

VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. est un test rapide immunochromatographique pour la détection du Paludisme à *P. falciparum* ou autres ainsi que les infections mixtes. Au fur et à mesure que l'échantillon migre sur la membrane de la cassette, après avoir ajouté le tampon de dilution, le conjugué (anticorps monoclonaux) anti - pLDH et anti-Pf HRP-2 marqué à l'or colloïdal se fixe sur l'antigène pLDH et Pf HRP-2 présents dans l'échantillon lysé. Ce complexe avance sur la membrane jusqu'à la zone réactionnelle où il est immobilisé par des antigènes réagissant avec les anticorps monoclonaux anti - pLDH et anti-Pf HRP-2 fixés sur la membrane, formant ainsi une ligne colorée rose et confirmant un résultat positif. Deux lignes apparaîtront dans la région test pour les échantillons *falciparum* positifs. Une ligne apparaîtra pour les échantillons non *falciparum* positifs. L'absence d'une ligne colorée dans la région test indique un résultat négatif.

Le conjugué non utilisé, les complexes non liés, et les IgG de lapin marqués à l'or colloïdal migrent plus loin sur la membrane et seront immobilisés par des anticorps de chèvre anti-IgG de lapin fixés sur la zone de contrôle "C" de la membrane. Ils formeront une ligne de coloration rose à mauve foncé. Cette ligne de contrôle sert à valider le test.

CONTENU



| Test | Device |
|------|--------|
|------|--------|

Le test contient comme conjugué des ac monoclonaux anti pLDH, anti-Pf HRP2 et des IgG de lapin couplés à de l'or colloïdal ainsi qu'une membrane sensibilisée avec des anticorps monoclonaux Anti - pLDH et anti-Pf HRP-2 pour les 2 lignes tests et un anticorps de chèvre anti-lapin pour la ligne contrôle.

Micropipette plastique jetable 5µl.
Sachet dessiccant

| Buf | 7.5 ml |
|---|--------|
| Tampon de dilution. Solution de Trizma-Base et Triton X-100 | |

NOTICE D'UTILISATION

1

PRECAUTIONS

Les réactifs **VISITECT** ne contiennent pas de substances dangereuses selon le règlement britannique courant sur l'utilisation des produits chimiques. Tous les réactifs doivent, cependant, être considérés comme potentiellement dangereux. La composition finale doit être conforme à la législation locale. Ne pas ingérer.

Le tampon de dilution de **VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf.** contient 0.095% d'azide de sodium comme conservateur qui peut être toxique s'il est ingéré. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb ou la tuyauterie en cuivre et former des sels explosifs. Dans cette situation, rincer avec de grandes quantités de l'eau.

STOCKAGE

Les réactifs doivent être stockés à des températures comprises entre 4°C et 30°C.

Le kit est à utiliser selon les spécifications et jusqu'à la date de péremption indiquée, déterminée à partir de la date de fabrication des produits et indiquée sur le kit et ses composants. La date d'échéance est le dernier jour du mois indiqué sur l'emballage et l'étiquette du kit. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.

L'exposition des réactifs à des températures excessives doit être évitée. Ne pas exposer à la lumière directe du soleil.

NE PAS CONGELER LE RÉACTIF car ceci engendrerait un dommage irréversible.

COLLECTION ET PRÉPARATION DE L'ECHANTILLON

Prélever un échantillon de sang veineux sur tube EDTA, Héparine ou Citrate.

Le plasma peut être stocké entre 2°C et 8°C 72 heures avant l'analyse

Des échantillons frais de sang total peuvent être testés avec ce kit. Voir procédure du test.

PRÉPARATION DU RÉACTIF

Tous les composants doivent être à la température ambiante (20°C à 25°C) et être agités délicatement avant l'utilisation.

Au cas où les cassettes seraient stockées entre 4°C à 8°C, attendre au moins 30 minutes pour que les réactifs atteignent la température ambiante. Vérifier la couleur du dessiccant. Il doit être bleu. S'il est devenu incolore ou bleu clair, jeter le dispositif.

LIMITES D'UTILISATION

L'utilisation d'échantillons autres que sang total ou prélèvement effectué sur EDTA, Héparine ou Citrate n'ont pas été validés pour ce kit.

Le produit n'est pas réutilisable

Un résultat positif faible ou douteux doit être re-testé. Le diagnostic ne doit pas être établi uniquement sur les résultats de l'analyse d'un test mais en prenant en compte toutes les données cliniques.

HRP – 2 n'est pas secrété lors de l'étape de gametogonie du *P. falciparum* paludique. Cet aspect doit être pris en compte lors de l'interprétation des résultats

Quand il est présent Pf HRP-2 peut persister jusqu'à deux semaines (même après une thérapie réussie), un résultat de test positif n'indique donc pas un échec de réponse thérapeutique.

La pLDH est produite par les parasites vivants, c'est pourquoi la bande réactionnelle peut être utilisée pour diriger la thérapie anti paludisme. Si la bande réactionnelle persiste après 5 à 10 jours de traitement, une résistance peut être envisagée.

Si le trait HRP-2 est positif mais le trait réactionnel est négatif, cela peut être le résultat d'un traitement réussi mais un nouveau prélèvement du patient doit être effectué et testé deux jours plus tard.

Dans le cas d'une infection mixte impliquant *P. falciparum* et une autre espèce, les deux traits Pan et Pf doivent être positifs.

La plupart des échantillons de sang s'éclaircissent pendant le test. Cependant, pour quelques échantillons frais et surtout les échantillons stockés, l'éclaircissement du fond peut être retardé de 15-20 minutes. Il est fortement recommandé dans ces cas d'attendre encore 15 minutes avant d'effectuer la lecture afin que les résultats puissent être interprétés.

PROCÉDURE DU TEST

- Ouvrir le sachet et retirer la cassette. Une fois ouvert, le test doit être réalisé immédiatement.
- Mélanger par retournement l'échantillon de sang recueilli sur anticoagulant. Prélevé le volume nécessaire en appliquant la micropipette à la surface de l'échantillon.
Déposer ce prélèvement dans le puits 'A' de la cassette. (Ceci délivre approximativement 5µl de sang total de l'échantillon).

OU

Dans le cas d'une piqure au bout d'un doigt, appliquer la micropipette sur la goutte issue de la piqure et déposer le prélèvement dans le puits 'A'. (Vérifier que l'échantillon de sang ne coagule pas et faire le transfert immédiatement)

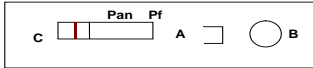
OU

5µl de sang recueilli sur anticoagulant ou piqure au bout du doigt peut être déposés dans le puits 'A' en utilisant une pipette.
NOTE: s'assurer que le sang ait été totalement absorbé.

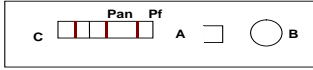
- Verser 4 gouttes de tampon de dilution dans le puits 'B' en tenant le flacon compte gouttes en plastique verticalement.
- A la fin des 15 minutes, effectuer la lecture des résultats.
Cependant si l'arrière plan de la fenêtre de résultat ne s'est pas éclaircie en 15 minutes, attendre encore 15 minutes avant de lire les résultats.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

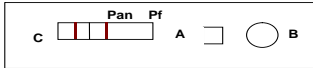
Négatif : un trait rose-violet apparaît en "C" (contrôle), uniquement



Positif : pour la P.falciparum ou infection mixte: deux traits distincts rose-violet apparaissent en sections 'Pf' et 'Pan' en plus du trait de contrôle.



Positif: pour Plasmodium non P.falciparum: en plus du trait de contrôle, un trait rose-violet apparaît dans la section 'Pan' du test.



Le test doit être considéré comme non interprétable si aucune ligne n'apparaît. Refaire le test avec une nouvelle cassette.

CAUSES D'ERREUR

Utiliser une pipette jetable à usage unique pour chaque échantillon afin d'éviter les contaminations croisées

Avant de réaliser le test, amener les différents réactifs à température ambiante (20°C to 25°C).

A usage de personnes ayant un minimum de formation technique.

Ne pas utiliser de composant endommagé ou contaminé

RESULTATS D'EVALUATION

La reproductibilité de VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf est 100% (+/- une dilution de raison 2).

Lors d'une étude, 251 échantillons ont été testés avec VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. Les résultats furent confirmés à l'aide d'une expertise microscopique

Les résultats obtenus apparaissent dans le tableau suivant:

| Type d'échantillon | Nombre total d'échantillons testés | VISITECT Malaria Combo Pan / Pf | | Sensibilité % | Spécificité % |
|--------------------|------------------------------------|---------------------------------|-----|---------------|---------------|
| | | + | - | | |
| P.falciparum | 16 | 16 | 0 | 100 | - |
| P.vivax | 25 | 25 | 0 | 100 | |
| Positif | | | | | |
| Malaria Négatif | 210 | 0 | 210 | - | 100 |

REFERENCES

- Howard, R.J., et al, 1986: Secretion of a Malarial Histidine-rich Protein (Pf HRP II) from Plasmodium falciparum-infected Erythrocytes. J. Cell Biol., 103, 1269-1277.
- Rock, E.P., et al, 1987 : Comparative Analysis of the Plasmodium falciparum Histidine-Rich Proteins HRP-I, HRP-II, and HRP-III in Malaria Parasites of Diverse Origin. Parasitol., 95, 209-227.
- Parra, M.E., et al, 1991 : Identification of Plasmodium falciparum Histidine-Rich Protein 2 in the Plasma of Humans with Malaria. J. Clin. Microbiol., 29, 1629-1634.
- Rodriguez-Del Valle, M., et al, 1991 :Detection of Antigens and Antibodies in the Urine of Humans with Plasmodium falciparum Malaria. J. Clin. Microbiol., 29, 1236-1242.
- Makler, M. T., et. al.(1993) Parasite lactate assay as an assay for Plasmodium falciparum drug sensitivity. Am. J. Trop. Med. Hyg. 48(6), 739-741.
- Piper, R. C., et. al., (1999) Immuno-capture diagnostic assays for malaria utilizing Plasmodium Lactate Dehydrogenase (pLDH) Am. J. Trop. Med.Hyg. 60(1) 109-118.
- Srinivasan, S., et. al.,(2000) Comparison of blood – film microscopy, The OptiMAL dipstick, Rhodamine- 123 fluorescence staining and PCR for monitoring antimalarial treatment. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 94(3) 227-232.
- Hunte-Cooke A., et. al., (1999) Comparison of a Parasite Lactate Dehydrogenase-based Immunochromatographic Antigen Detection assay (OptiMAL®) with Microscopy for the Detection of Malaria Parasites in Human Blood Samples. Am J.Trop Med 60(2), 173-176.
- John, S. M., et. al.,(1998) Evaluation of OptiMAL, a dipstick test for the diagnosis of malaria. Ann. Trop. Med. Parasitol., 92, 621-622. 1
- Quintana M., et. al., (1998) Malaria diagnosis by dipstick assay in a Honduran Population with coendemic Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax. Am. J. Trop. Med. Hyg. 59(6) 868-871. 11.Palmer, C. J.,(1998) Evaluation of OptiMal test for rapid diagnosis of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum . J. Clin Microbiol . 36(1) 203-206.
- Moody A., et. al (2000) Performance of the OptiMAL® malaria antigen capture dipstick for malaria diagnosis and treatment monitoring. British Journal of Hematology, 109, 1-5 .
- Data on file, Omega Diagnostics Ltd.

Issue 1A Revised September 2009 FRENCH
© Omega Diagnostics Ltd 2009



OMEGA DIAGNOSTICS LTD
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva, FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 & 13485 CERTIFIED COMPANY