

# VISITECT® MALARIA COMBO PAN / Pf <sup>Ref</sup> OD206

## Test rapido per la determinazione di infezioni di P.falciparum, non falciparum e di infezioni miste in campioni di sangue intero.

### Conservare a 4° e 30°C. Non congelare.

### Esclusivamente per uso diagnostico.

#### DESCRIZIONE E FINALITA' DEL TEST

Quattro specie del genere Plasmodium sono responsabili delle infezioni di malaria nell'uomo: P.falciparum, P.vivax, P.ovale e P.malariae. P. falciparum è la specie prevalente e più grave, responsabile della maggior parte delle forme patologiche e prima causa di mortalità nel mondo. Il periodo di incubazione, i sintomi e la durata dell'infezione variano a seconda della specie e del livello di immunità acquisita dai pazienti. La diagnosi precoce e la differenziazione della tipologia di malaria è quindi di grande importanza per l'incidenza di malaria cerebrale e di resistenza ai farmaci ad essa associata. VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf è in grado di determinare l'infezione malarica grazie all'identificazione della pan Lattato Deidrogenasi ( pLDH ) specifica del plasmodio, rilasciata dai globuli rossi colpiti dal parassita. Inoltre VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf determina l'infezione causata specificamente da P.falciparum grazie all'identificazione della proteina Pf HRP-2, ricca di istidina, proteina idrosolubile rilasciata dai globuli rossi colpiti dal parassita di individui infettati e specifica della specie P. falciparum.

VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf è un test immunoenzimatico a sandwich rapido a due siti per la determinazione delle proteine pLDH e Pf HRP-2 in campioni di sangue intero. Esclusivamente per uso diagnostico.

#### PRINCIPIO DEL TEST

VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf è un test rapido che utilizza il principio dell'immunocromatografia per la determinazione di malaria indotta da P.falciparum , non P.falciparum o di infezioni miste. Quando il campione in esame scorre lungo la membrana del dispositivo del test, dopo l'aggiunta del tampone di diluizione, i coniugati colorati anticorpi monoclonali anti - pLDH e anti-Pf HRP-2 particelle colloidali gold formano un complesso con le proteine pLDH e Pf HRP-2 presenti nel campione lisato. Il complesso migra attraverso la membrana fino all'area dove viene catturato dagli anticorpi monoclonali anti - pLDH e anti-Pf HRP-2 adesi alla membrana, portando alla formazione di bande di colore rosa che confermano una reazione positiva. Due bande appariranno nell'area del test in caso di campioni falciparum positivi e una banda nel caso di campioni non falciparum positivi. L'assenza delle bande colorate in quest'area indica una reazione negativa. Il coniugato residuo eventualmente rimasto, complesso non legato e le particelle colloidali gold coniugate a IgG di coniglio migrano ulteriormente lungo la membrana e sono successivamente catturati da anticorpi anti IgG di coniglio adesi come controllo nell'area relativa del dispositivo, formando una banda di colore rosa. La banda di controllo serve per poter validare i risultati del test.

#### CONTENUTO DEL KIT

<sup>Ref</sup>  
OD206



Test	Device
------	--------

Membrana di reazione predisposta con anticorpi monoclonali anti - pLDH e anti-Pf HRP-2 coniugati con particelle colloidali e particelle colloidali coniugate ad anticorpi IgG di coniglio. Anticorpi monoclonali anti - pLDH e anti-Pf HRP-2 posizionati nell'area di reazione e anticorpi anti IgG di coniglio nell'area di controllo. Pipette monouso da 5µl per la dispensazione del campione. Bustina essiccate.

**Buf** 7.5 ml  
Tampone diluente. Soluzione di Trizma-Base e Triton X-100.

Foglietto di istruzioni 1

#### PRECAUZIONI

I reagenti contenuti nel sistema VISITECT non contengono sostanze pericolose in base alle attuali norme dell'UK Chemicals (vedasi la relativa scheda di sicurezza). I reagenti, tuttavia, devono essere trattati con la massima cura come potenzialmente pericolosi sia durante l'uso che nello smaltimento. L'eliminazione finale deve essere eseguita in accordo con le legislazioni locali. Non ingerire.

Il tampone diluente VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf contiene lo 0,095% di sodio azide come conservante che può risultare tossica se ingerita. La sodio azide può inoltre reagire a contatto con i metalli negli impianti idraulici di scarico e formare composti altamente esplosivi. Nello smaltimento risciacquare quindi con grandi quantità di acqua.

#### CONSERVAZIONE

I reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 4°C e 30°C.

Non utilizzare dopo la data di scadenza riportata sull'etichetta. La data di scadenza è l'ultimo giorno utile del mese riportato sulla bustina e sull'etichetta del kit.

Evitare l'esposizione dei reagenti a temperature elevate. Non esporre a luce diretta.

NON CONGELARE le membrane di reazione, dal momento che si potrebbe verificare un danno irreversibile.

#### RACCOLTA DEL CAMPIONE E PREPARAZIONE

Prelevare un campione di sangue venoso dal paziente e addizionarlo a un flacone di raccolta di EDTA, eparina o citrato.

I campioni possono essere testati immediatamente o conservati a 2°C e 8°C fino a 72 ore prima del test.

Nel test possono essere impiegati campioni di sangue intero. Vedasi il procedimento d'uso.

#### PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Le membrane di reazione e i campioni devono essere portati a temperatura ambiente (20°C e 25°C) e miscelati delicatamente prima dell'uso.

Nel caso le bustine siano state conservate a una temperatura compresa tra 4°C e 8°C, lasciare raggiungere la temperatura ambiente per almeno 30 minuti. Verificare il colore dell'essiccate: dovrebbe essere blu. Se si presenta incolore o di colore blu tenue, scartare la membrana e utilizzarne un'altra.

#### LIMITAZIONI D'USO

L'uso di campioni diversi dal sangue intero o dal plasma con aggiunta di EDTA, eparina o citrato non è stato validato per questo test.

Non esiste un protocollo reuse per questo prodotto.

Una reazione debole che si sospetta positiva deve essere ristata. La diagnosi dovrebbe essere formulata sulla base del complesso dei dati clinici. Si raccomanda fortemente di prendere in considerazione tutti i dati clinici disponibili prima di formulare un'interpretazione del test.

La proteina HRP - 2 non è secreta nello stadio gametogonico di infezione malarica di P.falciparum e questo aspetto va tenuto in considerazione nella diagnosi.

Dato che la proteina Pf HRP-2 permane fino a due settimane (anche in seguito a terapia con buon esito), un risultato positivo del test non indica un fallito responso terapeutico.

La proteina pLDH è un prodotto di parassiti vitali; quindi la banda PAN può essere usata per monitorare la terapia anti malarica. Se la banda PAN rimane della stessa intensità per 5-10 gg. dopo il trattamento si dovrebbe considerare la possibilità di una resistenza al farmaco.

Se la banda HRP - 2 line è positiva ma la banda PAN è negativa questo potrebbe essere l'effetto di un trattamento che ha avuto successo ma il paziente dovrebbe essere seguito e il test ripetuto dopo 2 giorni.

In caso di infezioni miste coinvolgenti P.falciparum e altre specie malariche entrambe le bande PAN e Pf risulteranno positive.

La maggior parte dei campioni di sangue si chiarificano nei tempi previsti per l'esecuzione del test. Tuttavia con alcuni campioni di sangue fresco e specialmente con campioni conservati, la chiarificazione dello sfondo può richiedere 15-20 minuti in più. In questi casi si raccomanda fortemente di estendere il tempo di lettura di ulteriori 15 minuti affinché i risultati possano essere nettamente interpretati su uno sfondo chiaro.

#### PROCEDIMENTO

1. Aprire una bustina ed estrarre la membrana di reazione. Una volta aperta la bustina, il dispositivo deve essere usato immediatamente.
2. Miscelare uniformemente i campioni di sangue non coagulato agitando con delicatezza. Portare a contatto la pipetta di applicazione del campione con la superficie del sangue. Porre il sangue così raccolto sul tampone del campione nel pozzetto 'A'. (Questo permette il rilascio di approssimativamente 5µl del campione di sangue intero).

oppure

In caso di sangue ottenuto per puntura di un dito, portare a contatto la pipette di applicazione del campione direttamente sulla puntura del dito e immediatamente porre il sangue così raccolto sul tampone del campione nel pozzetto 'A'. (Fare attenzione che il campione di sangue raccolto non sia coagulato e che il trasferimento sia immediato).

oppure

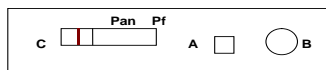
In alternativa 5µl di campione di sangue non coagulato o ottenuto per puntura di un dito possono essere posti sul tampone del campione nel pozzetto 'A' usando una micropipetta.

NOTA: Assicurarsi che il sangue rilasciato dalla pipetta di applicazione sia completamente assorbito dal tampone.

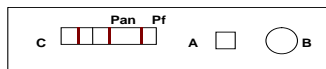
3. Aggiungere quattro gocce del tampone di diluizione nel pozzetto 'B', tenendo il contagocce in posizione verticale.
4. Leggere i risultati dopo quindici minuti. Tuttavia, se lo sfondo dell'area del test non si è chiarificato in questo periodo, attendere altri 15 minuti prima di leggere i risultati.

## RISULTATI E INTERPRETAZIONE

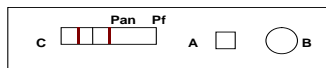
Reazione negativa per malaria: si osserva soltanto una banda colorata in rosa-porpora nell'area di controllo contrassegnata con 'C'.



Reazione positiva per malaria indotta da P.falciparum o da infezioni miste: si osservano due distinte bande colorate in rosa-porpora nelle aree per il test contrassegnate con "PF" e "Pan" oltre alla banda di controllo.



Reazione positiva per malaria indotta da P. non falciparum: si osserva una distinta banda colorata in rosa-porpora nell'area per il test contrassegnata con "Pan" oltre alla banda di controllo.



Il test deve essere considerato non valido se non si osserva la comparsa di alcuna banda e va ripetuto con un'altra membrana.

## AVVERTENZE

Utilizzare contagocce monouso per ciascun campione per evitare contaminazioni.

Prima di iniziare il test portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20°C e 25°C).

Il prodotto è indicato esclusivamente per uso diagnostico in vitro da parte di operatori con una minima esperienza di laboratorio.

Non usare componenti del kit danneggiati o contaminati.

## TEST DI VALUTAZIONE

La riproducibilità di VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf è del 100% (+/- una doppia diluizione).

In uno studio indipendente un pannello di 251 campioni i cui risultati erano preventivamente stati confermati al microscopio sono stati testati con VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf e i risultati sono stati i seguenti:

Tipo di campione	Nr. Totale di campioni testati	VISITECT Malaria Combo Pan / Pf		Sensibilità %	Specificità %
		+	-		
P.falciparum	16	16	0	100	-
P.vivax Positive	25	25	0	100	-
Malaria Negative	210	0	210	-	100

## RIFERIMENTI

- 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 1 Revised July 2004 ITALIAN  
© Omega Diagnostics Ltd 2004



  
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