

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

Teste rápido para a determinação qualitativa de *P. falciparum*, non-falciparum e infecções mistas em sangue total.

Conservar a uma temperatura entre 4°C e 30°C. NÃO CONGELAR. Para diagnóstico “in Vitro”.

INTRODUÇÃO

A malária, na espécie humana, pode ser provocada por quatro espécies de Plasmodium: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. Destes cinco, o *P. falciparum* é o mais frequente e agressivo sendo responsável pela maior parte das mortes em todo o mundo. O período de incubação, os sintomas da doença e o tempo de ataque, variam conforme as espécies e o nível de imunidade adquirido. A detecção precoce do *P. falciparum* malária é, por conseguinte, de importância primordial devido à incidência da malária cerebral e da resistência às drogas a ela associada. O VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf determina uma infecção de malária através da detecção de plasmódio LDH, este libertado por glóbulos vermelhos parasitados, sendo específico da pan malária. O VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf também determina uma infecção específica de *P. falciparum* através da detecção da Pf HRP-2 é uma proteína solúvel em água, que é libertada pelos eritrócitos parasitados de indivíduos infectados e é específica da espécie *P. falciparum*.

VISITECT MALARIA COMBO Pan/ Pf é um teste rápido, qualitativo, imunoenzima, para a determinação de pLDH e da proteína Pf HRP-2 rica em histidina e específica do *P. falciparum*, em amostras de sangue total. O teste deve ser realizado apenas por pessoal qualificado.

PRINCÍPIO DO TESTE

O VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf é um teste rápido para a detecção do *P. falciparum* malária, que utiliza o princípio da imunocromatografia. À medida que a amostra de teste flui através da membrana da cassete, após a adição do tampão de diluição, o conjugado coloidal dourado do monoclonal anti-pLDH e anti-Pf HRP-2 forma um complexo com o pLDH e o Pf HRP-2 da amostra. O complexo formado desloca-se ao longo da membrana até à região de teste, onde vai ser imobilizado pelos anticorpos monoclonais anti-pLDH e anti-Pf HRP-2 embebido na membrana, dando origem à formação de uma linha rosada que confirma um resultado positivo.

A ausência desta linha rosada na região de teste indica um resultado negativo.

O conjugado que não reagiu e o complexo não ligado, se existirem, continuam a mover-se ao longo da membrana e são finalmente imobilizados pelos anticorpos anti-rato que estão embebidos na região de controlo “C” formando uma linha rosada. Esta linha de controlo serve para validar os resultados do teste.

CONTEÚDOS

Ref
OD206



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

Composto por uma membrana embebida com anticorpo monoclonal anti-pLDH e anti-Pf HRP-2 conjugado com o coloidal dourado e o coloidal dourado conjugado com anticorpo IgG de coelho.

Anticorpo monoclonal Anti-pLDH e o Pf HRP-2 na linha de teste e anticorpos IgG de cabra anti-coelho na linha de controlo.

Pipeta de plástico descartável (o volume dispensado é de 5µl). Pacote de dessecante.

Buf	7.5 ml
Tampão de diluição. Solução de Trizma-Base e Triton X-100	

INSTRUÇÕES DE USO 1

PRECAUÇÕES

Os reagentes VISITECT não contêm substâncias perigosas de acordo com a regulamentação da UK Chemicals (*Hazardous Information and Packaging for Supply*). De qualquer modo, todos os reagentes devem ser tratados como potenciais contaminantes durante a utilização e aquando do descarteamento. O tratamento final aplicado aos reagentes já utilizados deve ser realizado de acordo com a legislação local. Não ingerir.

VISITECT MALARIA COMBO Pan Pf. O tampão de diluição contém 0.095% de azida de sódio a qual pode ser tóxica. A azida de sódio pode reagir com cobre e/ou chumbo formando azidas metálicas explosivas. Aquando do descarteamento dos reagentes já utilizados adicionar grandes quantidades de água de modo a prevenir a formação das azidas.

CONSERVAÇÃO

Os kits devem ser conservados a uma temperatura entre 4°C e 30°C

O kit terá uma performance de acordo com as especificações durante o período de validade indicado pelo fabricante e indicado na embalagem do kit e seus componentes. Não utilizar reagentes após o prazo indicado na embalagem.

Deve-se evitar a exposição dos componentes do kit a temperaturas excessivamente elevadas. Conservar ao abrigo da luz directa.

NÃO CONGELAR pode causar danos irreversíveis.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Recolher a amostra por punção venosa e colectar para um recipiente de EDTA ou um recipiente de colheita de plasma.

As amostras devem ser conservadas a 2°C e 8°C até 72 horas antes do teste.

Neste kit também podem ser utilizadas amostras frescas de sangue total. Ver a metodologia em PROCEDIMENTO.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

As cassetes teste e as amostras devem ser trazidas à temperatura ambiente antes da execução do teste (20°C e 25°C). A amostra deve ser agitada antes de ser utilizada.

aso o kit tenha sido conservado a uma temperatura de 4°C a 8°C colocar a cassete-teste à temperatura ambiente durante 30 minutos. Verifique a cor do dessecante, deve apresentar uma cor azul. Caso se apresente incolor ou com uma fraca coloração azul utilize outra cassete teste.

LIMITAÇÕES DO TESTE

A utilização de amostras que não sejam de sangue total ou de EDTA, Heparina ou Citrato sangue total não são válidas para este teste.

Não existe qualquer protocolo reutilização deste produto

Um resultado fracamente positivo ou que se suspeita ser positivo de ser repetido. O diagnóstico clínico deve ser realizado em conjunto com outras evidências clínicas.

Se a proteína Pf HRP-2 permanecer no organismo até 2 semanas (mesmo após uma terapia bem sucedida), deste modo um resultado positivo durante este período não é indicador de uma falha na resposta à terapêutica aplicada.

pLDH deriva de parasitas conservados por isso a banda Pan pode ser utilizada com o objectivo de monitorizar a terapia anti malária. Se a linha Pan permanecer com a mesma intensidade durante 5 a 10 dias deve ser considerada uma resistência pós tratamento.

Se a linha da HRP-2 for positiva mas a linha Pan negativa pode se dever ao efeito de um tratamento de sucesso, porém o doente deve ser visto por um médico e o teste repetido após dois dias.

No caso da infecção ser derivada de uma mistura entre o *P. falciparum* malária e outra espécie de malária, tanto a linha Pan como a Pf serão positivas.

Para que os resultados sejam interpretados sobre um fundo limpo, recomenda-se a extensão do tempo de leitura por mais 15 minutos.

PROCEDIMENTO

1. Abrir o invólucro e remover a cassete para efectuar o teste. Uma vez aberto, a cassete teste deverá ser utilizada imediatamente.
2. Homogeneizar a amostra de sangue não coagulado, através de uma agitação suave. Tocar com a pipeta na superfície da amostra de sangue. Colocar o sangue assim recolhido, na célula “A” da cassete (aproximadamente 5 µl da amostra de sangue total);

OU

No caso de ser utilizada uma lanceta, tocar com a pipeta aplicadora da amostra no sangue do dedo e colocar imediatamente o sangue assim recolhido na célula “A” da cassete teste (atenção: a transferência da amostra de sangue para a cassete deverá ser imediata para que não se formem coágulos na amostra de sangue);

OU

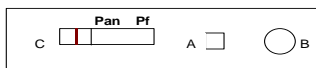
Como alternativa, poderá ser utilizada uma micropipeta para colocar 5 µl a amostra de sangue total na célula “A” da cassete.

NOTA: Assegurar que todo o sangue da pipeta aplicadora da amostra foi completamente transferido para a cassete.

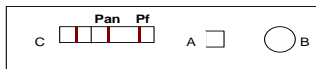
3. Colocar 4 gotas do tampão de diluição (fornecido no kit) na célula “B” da cassete, apertando o frasco de plástico na vertical.
4. Ler os resultados ao fim de 15 minutos

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

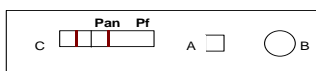
Negativo: para *Malaria*: aparecimento de uma única linha rosada na região de controlo "C".



Positivo: para o *P. falciparum malaria* ou *infecção mista*: aparecimento de duas linhas rosadas; uma na secção "Pan", outra na secção "Pf".



Positivo: para *malaria não P.falciparum*: Além da linha de controlo aparece também uma linha rosa/púrpura na secção "Pan" do teste.



O teste é considerado inválido caso não apareça qualquer linha. Repetir o teste utilizando outra cassette.

RECOMENDAÇÕES

Utilizar uma pipeta descartável para cada amostra de modo a prevenir contaminações.

Os componentes do kit deverão estar à temperatura ambiente antes de se iniciar o teste (20°C e 25°C).

O kit deve ser manuseado apenas por pessoal qualificado.

Não utilizar componentes do kit danificados ou contaminados.

AVALIAÇÃO DO TESTE

A reprodutibilidade do **VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf** é de 100% (+/- uma diluição dupla).

Num estudo, 251 amostras, cujos resultados já tinham sido previamente confirmados através de técnicas experientes de microscopia foram testadas com o **VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf**. Os resultados obtidos foram os seguintes:

Tipo de amostra	Nº Total de Amostras Testadas	VISITECT Malaria Combo Pan / Pf		Sensibilidade %	Especificidade %
		+	-		
P.falciparum	16	16	0	100	-
Positiva P.vivax	25	25	0	100	-
Negativa Malaria	210	0	210	-	100

BIBLIOGRAFIA

- 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.
- 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.
- 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 Portuguese
© 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 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY