

Malaria (pan/pv/pf) Codice: # MAL190026

Per uso diagnostico in vitro

INTRODUZIONE

Test rapido immunoenzimatico tipo "sandwich" qualitativo, per la individuazione nel sangue intero della glicoproteina di tipo 2 ricca in istidina di *P. falciparum* (Pf HRP-2), della lattato deidrogenasi specifica liberata da *P. vivax* e di quella dei plasmodi della malaria. Il test può essere usato per la identificazione specifica del *P. falciparum* e del *P. vivax* della malaria, per la differenziazione delle altre specie di malaria e nel follow up della terapia antimalarica.

SOMMARIO

Le specie di plasmodi responsabili della malaria nell'uomo sono quattro: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. Tra questi, la maggior prevalenza si ha per *P. falciparum* e *P. vivax*. A causa dell'incidenza della forma cerebrale della malattia, della resistenza farmacologica associata al *P. falciparum* e della morbilità associata alle infezioni da altre forme, sono di grande importanza la identificazione e la differenziazione precoci della malaria. Dal momento che la terapia e la sua efficacia dipendono dal tipo di plasmodio, è estremamente importante la distinzione tra *P. falciparum* e *P. vivax* per garantire il miglior trattamento del paziente ed una rapida guarigione. Per quanto riguarda la malaria da *P. falciparum*, questo test si basa sulla individuazione della proteina specifica di tipo 2 ricca in istidina, proteina idro-solubile liberata durante il ciclo eritrocitario del parassita. Per la malaria da *P. vivax*, il sistema di identificazione si basa sulla presenza della lattato deidrogenasi specifica liberata dai plasmodi.

Gli altri tipi di malaria, come quella da *P. ovale* e *P. malariae* vengono identificati mediante la dimostrazione della pLDH generica.

Dato che pLDH è prodotta dai parassiti vitali, la presenza della banda generica può venire usata anche per seguire l'efficacia della terapia anti-malarica.

Il test utilizza sangue intero e permette l'individuazione sensibile e specifica di tutti i tipi di malaria, la differenziazione tra *P. falciparum* e *P. vivax* e la verifica della terapia.

PRINCIPIO

Il test utilizza il principio della immunocromatografia. Dopo l'aggiunta del Diluente, il campione lisato forma complessi immuni con il coniugato (oro colloidale anti-HRP-2, anti LDH specifica per *P. vivax* e anti-LDH pan-specifica). Questi si muovono lungo la membrana fino alla regione test dove vengono immobilizzati da anticorpi monoclonali anti- Pf. HRP-2 e / o anti pLDH specifici per *P. vivax* e / o anti pLDH pan specifici ivi adesi con la formazione di una banda rosa nella regione corrispondente (risultato positivo). L'assenza di una banda colorata a livello della regione del test indica un risultato negativo per il corrispondente antigene. Il coniugato che non ha reagito insieme ad eventuali complessi liberi si muovono lungo la membrana e vengono infine immobilizzati da anticorpi anti coniglio adesi nella

regione di controllo dando luogo ad una banda rosa. Questa banda di controllo serve a validare la prova.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI

Il kit contiene:

A. bustine singole: n.°25/kit ciascuna delle quali contiene:

1. Cassetta: membrana predispensata con anticorpi monoclonali anti - HRP-2 coniugati con oro colloidale, anticorpi monoclonali anti pLDH specifica per *P. vivax* coniugati con oro colloidale, anticorpi monoclonali anti pLDH pan specifica coniugati con oro colloidale, immunoglobuline di coniglio coniugate con oro colloidale, anticorpi monoclonali anti Pf. HRP-2, anticorpi monoclonali anti pLDH specifica per *P. vivax*, anticorpi monoclonali anti pLDH pan specifica e anticorpi anti-coniglio nelle rispettive regioni.
2. Essiccante.
3. Dispositivo per dispensare 5 µl di campione.

B. Tampone di Diluizione in un flaconcino con gocciolatore 1x 7.5 ml
Nocivo (Xn, R22-33, S23-46-61)

C. Istruzioni per l'uso

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

Micro pipette tarate per la dispensazione accurata di 5 µl di campione.

CONSERVAZIONE E STABILITA'

Il kit può essere conservato a 4-30°C fino alla scadenza indicata.

NON CONGELARE.

NOTE

Leggere attentamente le istruzioni prima di eseguire la prova.

Solo per uso diagnostico in vitro.

Non per uso medicinale.

Non usare oltre la data di scadenza.

Non scambiare reagenti di lotti diversi.

Trattare i campioni come potenzialmente infettivi Seguire le procedure di sicurezza nel trattamento e nello smaltimento di materiale potenzialmente infettivo.

CAMPIONE

Usare sangue intero fresco non coagulato (con EDTA o Eparina oppure Ossalato).

Utilizzare per il campione contenitori puliti in vetro o plastica.

Se non è possibile eseguire la prova subito dopo la raccolta, conservare il campione a 2-8°C per un massimo di 72 ore.

Non usare campioni coagulati o contaminati.

E' possibile anche utilizzare sangue fresco ottenuto mediante puntura di polpastrello.

PROCEDURA

1. Portare tutti i componenti a temperatura ambiente prima di eseguire il test.

2. Aprire la bustina e controllare il colore dell'essiccante, che deve essere blu. Se è incolore o rosa, scartare la cassetta ed aprirne un'altra. *Una volta aperto, effettuare immediatamente il test.*

3. Avvitare in senso orario il tappo del flacone del tampone di diluizione per bucare il gocciolatore.

4. Miscelare il campione di sangue non coagulato agitando delicatamente. Inserire l'ansa nel campione. Assicurarsi che questa sia riempita completamente, dispensare il sangue sulla finestra "A" (si tratta all'incirca di 5 µl di campione).

OPPURE

In caso si usi sangue da pungidito, avvicinare l'ansa al polpastrello punto, assicurarsi che venga riempita completamente e subito dispensare il sangue sulla finestra "A" (si tratta all'incirca di 5 µl di campione).

OPPURE

In alternativa, 5 µl di sangue possono essere dispensati nella finestra "A" con una micropipetta.

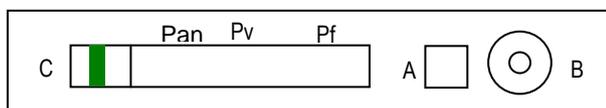
NOTA : Controllare che tutto il sangue del campione sia assorbito nella finestra "A"

5. Dispensare due gocce del Tampone di Diluizione nella finestra "B", tenendo verticalmente il gocciolatore.

6. Leggere I risultati dopo 20 (venti) minuti:

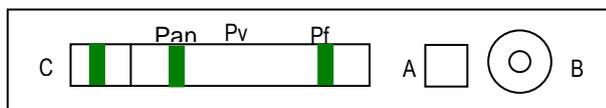
NEGATIVO per malaria:

Solo una banda rosa appare nella regione controllo "C".

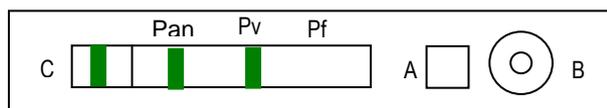


POSITIVO for malaria:

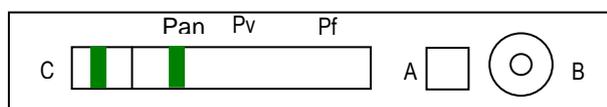
P. falciparum malaria: In aggiunta alla banda di Controllo, compare una banda rosa nelle regioni 'Pf' e 'Pan'.



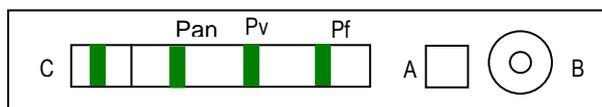
P. vivax malaria: In aggiunta alla banda di controllo, una banda rosa appare nelle regioni 'Pv' e 'Pan'.



Altre specie: In aggiunta alla banda di controllo, una banda rosa appare solo nella regione 'Pan'



Infezioni miste: In aggiunta alla banda di controllo, una banda rosa appare alle regioni 'Pf', 'Pv' e 'Pan'.



Il test va considerato **NON VALIDO** se non compare nessuna banda. Repetere la prova con un'altra cassetta assicurandosi di eseguire correttamente la prova.

LIMITAZIONI DEL TEST

- Come per tutti i test diagnostici, i risultati devono essere sempre correlati con i dati clinici.
- I risultati del test devono essere interpretati tenendo conto della situazione epidemiologica, clinica e terapeutica. Considerare, quando necessario, tecniche diagnostiche alternative di riferimento (esame microscopico della goccia spessa e striscio sottile).
- Qualunque modifica della procedura e / o l'uso di altri reagenti invalidano la prova.
- Non utilizzare cassetta e diluente di lotti diversi.
- Nel caso di infezione da *P. vivax* o *P. falciparum*, o da infezione mista di entrambe, la banda pan malaria deve essere positiva. Perciò la differenziazione tra infezione da *P. ovale* o *P. malariae* non può essere fatta.
- Nel monitoraggio della terapia, se la reazione del test rimane positiva con la stessa intensità dopo 5-10 giorni di trattamento, considerare la possibilità di un ceppo resistente.
- Di solito, le bande Pv e pan diventano negative dopo una efficace terapia anti-malarica. Tuttavia, siccome la durata del trattamento e i farmaci usati influiscono sulla eliminazione dei parassiti, il test andrebbe ripetuto dopo 5-10 giorni dall'inizio della terapia.
- Nella infezione da *P. falciparum*, l'HRP-2 non è secreto allo stadio di gametocita. Perciò, nei "portatori" la banda HRP-2 può essere assente.
- I livelli di HRP-2 dopo il trattamento persistono fino a 15 giorni, quindi la banda pan può essere usata per monitorare il successo della terapia nei casi di malaria da *P. falciparum*.
- A volte la positività della banda HRP-2 associata alla assenza della banda pan può indicare un caso di malaria post-trattamento. Tuttavia, questo quadro può essere osservato anche in pochi casi di malaria non trattata. In questi casi, ripetere la prova dopo due giorni.

CARATTERISTICHE DEL SAGGIO

E' stato studiato un pannello di 251 campioni precedentemente valutati al microscopio.

I risultati sono riportati nella tabella seguente:

| campione | n. totale di campioni | Malaria screen | | Sensibilità (%) | Specificità (%) |
|----------------|-----------------------|----------------|------|-----------------|-----------------|
| | | Pos. | Neg. | | |
| P.falcip. pos. | 16 | 16 | 0 | 100% | - |
| P. vivax pos. | 25 | 25 | 0 | 100% | - |
| Malaria neg. | 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 .

SIMBOLI USATI

| | |
|---|---|
|  | Leggere le istruzioni prima dell'uso |
|  | Temperatura di conservazione |
|  | Usare entro |
|  | Lotto |
|  | Codice |
|  | Diagnostico in vitro |
|  | Nocivo |
|  | Cassetta |
|  | Contagocce monouso in plastica |
|  | Tampone di Diluizione del Campione |
|  | Prodotto da |
|  | Data di Produzione |
|  | CONTIENE MATERIALE SUFFICIENTE PER NUMERO DI TEST |



Core Diagnostics
Aspect Court, 4 Temple Row
Birmingham B2 5HG
U.K.

DISTRIBUITO DA:



Via Zurigo 12/2
20147 Milano
tel 0229517788 fax 02700420912
info@fgmdiagnostici.it
www.fgmdiagnostici.it