

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

Prueba rápida para la determinación por P falciparum, Non Falciparum e infecciones mixtas en muestras de sangre humana. Almacenar entre 4°C y 30°C. No congelar. Para uso exclusivo en diagnostico in vitro.

INTRODUCCION Y USO PRETENDIDO

Cuatro especies diferentes de Plasmodium son responsables de las infecciones por malaria en el ser humano. P.falciparum, P.vivax, P.ovale and P.malariae. De todas estas P.falciparum, es la especie de mayor prevalencia y a la vez más severa, siendo responsable de las mayores tasas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. El período de incubación de la enfermedad, síntomas de la misma y duración del ataque varía con la especie y los niveles de inmunidad adquiridos por cada individuo. La detección temprana y la diferenciación de la especie causante de la malaria son por lo tanto de importancia suprema debido a la incidencia de malaria cerebral y a la resistencia asociada al tratamiento. VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. determina las infecciones por malaria mediante la detección de la enzima plasmodium Lactate Dehydrogenase (pLDH), que es liberada por los glóbulos rojos infectados por especies de plasmodium y las infecciones por falciparum mediante la detección de P.falciparum specific histidine rich protein-2 (Pf HRP-2), proteína específica soluble en agua que es liberada por los eritrocitos parasitados en aquellas personas infectadas por esta especie de plasmodium.

El VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. es una prueba rápida, por el método de inmuno-ensayo tipo sándwich para la determinación cualitativa de pLDH y Pf HRP-2 en muestras de sangre. Solo para uso profesional.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. es una prueba rápida por inmunocromatografía para la determinación de infecciones por Plasmodium falciparum (HRP-2), Plasmodium Non Falciparum (pLDH) e infecciones mixtas en muestras de sangre humana.

La muestra a evaluar se desplaza por cromatografía a través de la membrana una vez se adiciona el buffer de dilución. Los anticuerpos monoclonales anti- pLDH y anti-Pf HRP-2 conjugados con oro coloidal se unirán a los antígenos de pLDH y/o Pf HRP-2 si estos se encuentran presentes en la muestra. Este complejo antígeno-anticuerpo se moverá hacia la región de prueba donde serán inmovilizados por los anticuerpos monoclonales anti- pLDH y anti-Pf HRP-2 recubiertos en la membrana, permitiendo la formación de líneas rosadas o púrpuras que confirmaran un resultado positivo.

En infecciones por P.falciparum aparecerán dos bandas coloreadas en la región de prueba. En infecciones por P. Non falciparum aparecerá una única banda coloreada en la región de prueba. La ausencia de bandas coloreadas en la región de prueba indica un resultado negativo.

El conjugado que no reacciona, el complejo antígeno-anticuerpo no ligado, y el oro coloidal conjugado con suero IgG de conejo se desplaza a través de la membrana y es inmovilizado por los anticuerpos IgG anti conejo en cabra que recubren la región de control de la membrana permitiendo la formación de una línea color rosado o púrpura. Esta línea de control sirve para validar el desempeño del ensayo.

CONTENIDO

^{Ref}
OD206



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

Membrana pre-sensibilizada con anticuerpos monoclonales anti- pLDH y anti-Pf HRP-2 conjugados con oro coloidal en la región de prueba y oro coloidal conjugado con suero IgG de conejo en cabra en la región de control. Dispensador de muestra (desechable) para 5µL. Bolsa desecante.

Buf	7.5 ml
-----	--------

Buffer de dilución. Solución de Base Trizma y Triton X-100

MANUAL DE INSTRUCCIONES 1

PRECAUCIONES

Los reactivos VISITECT no contienen sustancias definidas como peligrosas de acuerdo con las regulaciones de la UK Chemicals (Hazardous Information and Packaging for Supply). No obstante, todos los reactivos deben ser tratados como potencialmente bio-peligrosos durante su uso y desecho. En cualquier caso las disposiciones finales en este tema deben estar en concordancia con la legislación local. No ingerir.

El buffer de dilución del VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. contiene 0.095% de ácido sódico como preservativo que puede ser tóxico en caso de ingestión. El ácido sódico puede reaccionar con el cobre y la fontanería de plomo formando sales altamente explosivas. Al desechar enjuague previamente con abundante agua.

ALMACENAMIENTO

Los reactivos se deben almacenar a una temperatura entre 4°C y 30°C.

El comportamiento del estuche se mantendrá dentro de las especificaciones hasta la fecha de vencimiento establecida, según se haya determinado como fecha de fabricación del producto y establecido en el estuche y sus componentes.

La fecha de vencimiento es la del último día del mes marcado en la botella y en la etiqueta.

No use los reactivos después de la fecha de vencimiento.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a excesivas temperaturas. No exponerlos a la luz del sol directamente.

NO CONGEELE NINGUNO DE LOS REACTIVOS pues esto causará daños irreversibles.

RECOLECCION Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Obtenga una muestra de sangre de una vena del paciente y colectela en un vial que contenga EDTA, Heparina o Citrato.

Utilice las muestras inmediatamente o almacénala a una temperatura de entre 2°C y 8°C hasta por 48 horas antes de hacer la prueba.

Muestras de sangre fresca también pueden utilizarse con este dispositivo. Consulte el procedimiento de la prueba para conocer la metodología.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Antes de utilizarlos coloque todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente (entre 20°C y 25°C). Mézclelos cuidadosamente.

En caso de perforación de la cubierta que protege al dispositivo este deberá almacenarse a temperaturas entre 4°C y 8°C y deberá colocarse a temperatura ambiente (entre 20°C y 25°C) por lo menos 30 minutos antes de ser utilizado. Verifique el color del desecante incluido con el dispositivo. Este debe ser azul. Si se ha vuelto incoloro o el color cambió a azul tenue descarte el dispositivo por otro nuevo.

LIMITACIONES PARA EL USO

El uso de muestras diferentes a la sangre total fresca o colectada con Heparina, EDTA o Citrato no ha sido validado para uso con esta prueba.

No existe protocolo para la reutilización de este producto.

Ante la sospecha de un caso positivo o la obtención de un positivo bajo la muestra debe ser reexaminada. El diagnóstico no se debe realizar con los resultados de una única prueba. Al interpretar la prueba se aconseja firmemente tener en cuenta todos los datos clínicos y los factores epidemiológicos.

Al interpretar la prueba se debe tener muy en cuenta que la proteína HRP-2 no es secretada en el estado de gametogonia durante la infección por P. Falciparum.

Cuando está presente la proteína HRP-2, esta persiste hasta por dos semanas (aún en casos de terapia exitosa) por lo que un resultado positivo no indica un fallo en la respuesta al tratamiento.

Como la pLDH es el resultado de los parásitos viables la línea coloreada en la sección Pan puede utilizarse para el monitoreo de la respuesta a tratamiento con drogas anti-maláricas. Por ello, si la intensidad de la línea Pan se mantiene inalterable transcurridos 5 a 10 días de tratamiento se debe considerar la existencia de resistencia al mismo por parte del paciente.

En caso de encontrarse la línea coloreada en la sección Pf y no en la sección Pan esto puede interpretarse como el resultado de una terapia exitosa y se sugiere la repetición de la prueba transcurrido al menos un período de dos días.

En caso de infección mixta que involucre a la especie P.falciparum con alguna otra especie, ambas líneas Pf y Pan serán positivas.

La inmensa mayoría de las muestras permite obtener resultados dentro de los parámetros normales establecidos para la prueba. Sin embargo, en algunas muestras de sangre fresca y especialmente en muestras almacenadas la obtención de los resultados puede retardarse 15 o 20 minutos más para una diferenciación correcta de las líneas de resultado frente al color de fondo. En tales casos se sugiere firmemente extender el tiempo de lectura por 15 minutos más (30 minutos en total) para que la interpretación se realice sobre un fondo suficientemente claro.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Abra la cubierta y extraiga el dispositivo. Una vez abierto este debe utilizarse inmediatamente.
2. Mezcle uniformemente la muestra de sangre almacenada con anti-coagulante. Coloque el dispensador de muestra desechable suministrado con el estuche en la parte superior del vial que contiene la sangre.

○

En caso de tomar directamente la sangre de una punción en el dedo coloque el dispensador de muestra desechable suministrado con el estuche en la gota de sangre que emana de la punción e inmediatamente coloque la muestra en el pozo identificado con la letra A en el dispositivo. (Especial cuidado debe tenerse para evitar que la muestra de sangre se coagule antes de ser colocada en el dispositivo).

○

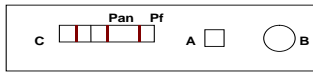
Utilizando una pipeta automática coloque 5µl de sangre fresca o almacenada con anti-coagulante en el pozo identificado con la letra A en el dispositivo.

NOTA: Asegúrese que toda la sangre recogida con el dispensador de muestra desechable suministrado con el estuche se haya colocado en el pozo identificado con la letra A en el dispositivo.

3. Dispense cuatro gotas del buffer de dilución en el pozo identificado con la letra B sosteniendo verticalmente el frasco gotero que contiene el reactivo.
4. Lea los resultados pasados 15 minutos. En caso de no ser claras las bandas en las secciones de resultado puede esperar otros 15 minutos para realizar la lectura definitiva

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

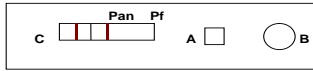
Negativo para Malaria: Aparece solo una línea coloreada en la ventana de control.



Positivo a *P. falciparum* o infecciones mixtas: Aparece una línea coloreada en la ventana de control y adicionalmente una línea coloreada en las secciones Pan y Pf.



Positivo a *P. Non falciparum*: Aparece una línea coloreada en la ventana de control y adicionalmente una línea coloreada en la sección Pan.



La prueba deberá considerarse inválida, y por lo tanto repetirse con un nuevo dispositivo, si la línea en la sección de control no aparece.

PREVENCIÓN DE INCONVENIENTES

Utilice un dispensador de muestra desechable para cada muestra con el fin de evitar posible contaminación cruzada.

Antes de desarrollar la prueba coloque todos los reactivos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).

La prueba debe desarrollarse por personas que al menos hayan recibido entrenamiento básico en técnicas de laboratorio.

No utilice componentes del kit que estén dañados o contaminados.

EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO

La reproducibilidad del VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. es del 100% (+/- una dilución doble). Un total de 251 muestras cuyos resultados fueron previamente confirmados por personal experto en técnicas de microscopía, fueron evaluadas utilizando el VISITECT MALARIA COMBO Pan / Pf. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tipo de Muestra	Muestras evauadas	VISITECT Malaria Combo Pan / Pf		Sensibilidad %	Especificidad %
		+	-		
P.falciparum	16	16	0	100	-
P.vivax Positive	25	25	0	100	-
Malaria Negative	210	0	210	-	100

REFERENCIAS

- 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.
- Rodríguez-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. Hyg. 59(6) 868-871.
- 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.
- 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 **SPANISH**
© 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