

Test rapido per l'individuazione qualitativa di antigeni di *P.falciparum* (P.f.) e *P. vivax* (P.v.) circolanti nel sangue intero.

Solo per uso diagnostico professionale *in vitro*.

### USO PREVISTO

Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è un test immunologico cromatografico rapido per l'individuazione qualitativa di due tipi di Plasmodium in circolo nel sangue intero: falciparum (P.f.) e vivax (P.v.).

### SOMMARIO

La Malaria è causata da un protozoo che infetta i globuli rossi del sangue umano<sup>1</sup>. La Malaria è una delle malattie più diffuse al mondo. Secondo la OMS, l'incidenza mondiale della malattia è stimata intorno ai 300-500 milioni di casi e oltre 1 milione di morti all'anno. La maggior parte di queste vittime sono neonati e bambini piccoli. Oltre la metà della popolazione mondiale vive in aree malariche. L'analisi microscopica dell'adequato striscio sanguigno sottile e spesso è stata la tecnica diagnostica standard usata per oltre un secolo per identificare le infezioni di malaria<sup>2</sup>. Tale tecnica è in grado di fornire una diagnosi accurata e affidabile quando eseguita da microscopisti esperti secondo protocolli definiti. L'abilità del microscopista e l'uso di procedure comprovate e definite rappresenta frequentemente il maggiore ostacolo per la potenziale accuratezza della diagnosi microscopica. Anche se esiste una difficoltà logistica associata all'esecuzione di una procedura che richiede tempo, lavoro e attrezzatura come la diagnosi microscopica, è la preparazione richiesta per stabilire ed eseguire una microscopia competente che pone la difficoltà maggiore nell'uso di questa tecnica diagnostica. Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è un test rapido per individuare qualitativamente la presenza di *P. falciparum* – specifico per HRP-II e *P. vivax* (P.v.). Il test si serve di un coniugato oro colloidale per individuare selettivamente antigeni specifici del P.f. e *P. vivax* (P.v.) nel sangue intero.

### PRINCIPIO

Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è un test immunologico qualitativo, basato su membrana, per l'individuazione degli antigeni di P.f. e P.v. nel sangue intero. La membrana è pre-rivestita con anticorpi anti- HRP-II e anti-pLDH. Durante il test, il campione di sangue intero reagisce con il coniugato colorato con cui è stato pre-rivestito il supporto del test. Il composto poi migra verso l'alto sulla membrana per azione capillare e reagisce con gli anticorpi anti-Proteina II Ricca in Istidina (HRP-II) sulla membrana nella zona della linea del test P.f. e con gli anticorpi anti-pLDH nella zona della linea del test P.v.. Se il campione contiene HRP-II o *P. vivax*LDH Plasmodio-specifico o entrambi, compare una linea colorata nella zona della linea del test P-f o P.v. o entrambe. L'assenza di linee colorate nella zona della linea P.f. o P.v. indica che il campione non contiene HRP-II e/o *P.vivax*LDH Plasmodio-specifico. Come controllo procedurale, compare sempre una linea colorata nella zona della linea di controllo, ad indicare che è stato usato un volume corretto di campione e che la membrana è stata imbevuta.

### REAGENTI

Il supporto del test contiene anticorpi coniugati oro colloidali anti-HRP-II di Plasmodium falciparum e anticorpi coniugati oro colloidali anti-Plasmodium falciparum *P.vivax*LDH e la membrana è ricoperta di anticorpi anti-HRP-II e anti-pLDH.

### PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico professionale *in vitro*. Non usare oltre la data di scadenza

- Solo per campioni di sangue intero. Non usare su altri campioni.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area di manipolazione dei campioni o dei kit.
- Manipolare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le precauzioni stabilite contro il rischio microbiologico per tutta la durata del test e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Indossare abbigliamento protettivo come camici da laboratorio, guanti usa e getta e occhiali protettivi durante l'analisi dei campioni.
- I test usati devono essere smaltiti secondo le legislazioni locali.
- Umidità e temperatura possono influenzare negativamente i risultati.
- Non cambiare o mescolare buffer e supporti dei test di kit con numeri di lotto diversi.
- Prestare attenzione durante la raccolta dei campioni. Un volume inadeguato di campione può causare una diminuzione della sensibilità.
- Assicurarsi di versare una quantità sufficiente di buffer nel pozzetto del campione. Una quantità inadeguata di buffer può causare risultati nulli.

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il kit a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). Il test è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione sigillata. Il test deve rimanere nella confezione sigillata fino al momento dell'uso. **NON CONGELARE**. Non usare oltre la data di scadenza.

### RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

- Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) può essere eseguito su sangue intero.
- Si può usare sangue intero sia da venipuntura che da puntura del dito.
- Per raccogliere **campioni di sangue intero con puntura del dito**:
  - Lavare la mano del paziente con sapone e acqua tiepida o pulirla con cotone imbevuto di alcol. Lasciar asciugare.
  - Massaggiare la mano senza toccare il luogo della puntura strofinando la mano verso la punta del dito medio o anulare.
  - Pungere la pelle con una lancetta sterile. Rimuovere il primo segno di sangue.
  - Massaggiare delicatamente la mano dal polso al palmo fino al dito per far uscire una goccia sferica di sangue dalla puntura.
- Il test andrebbe effettuato immediatamente dopo la raccolta dei campioni. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi. Per una lunga conservazione, i campioni devono essere conservati al di sotto di -20°C. Il sangue intero raccolto per venipuntura dovrebbe essere conservato a 2-8°C se si intende eseguire il test entro 2 giorni

dalla raccolta. Non congelare i campioni di sangue intero. I campioni di sangue intero ottenuti con pungidito dovrebbero essere testati immediatamente.

- Portare i campioni a temperatura ambiente prima del test. I campioni congelati dovranno essere completamente scongelati e mescolati accuratamente prima del test. I campioni non devono essere congelati e scongelati ripetutamente più di tre volte.
- Se i campioni devono essere spediti, dovranno essere imballati secondo le legislazioni locali in merito al trasporto di agenti eziologici.

### MATERIALI

#### Materiali Forniti

- Supporti test
- Contagocce per campioni usa e getta
- Buffer
- Foglietto illustrativo

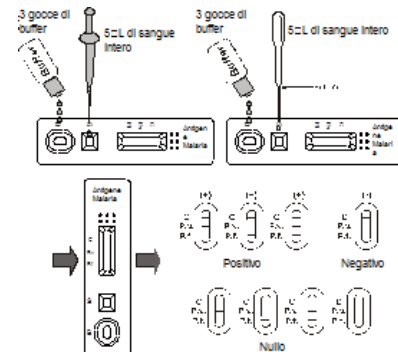
#### Materiali Necessari ma non forniti

- Pipette e punte usa e getta (optional)
- Contenitori per la raccolta del campione
- Lancette (solo per sangue intero da pungidito)
- Timer

### ISTRUZIONI PER L'USO

Portare il test, il campione, il buffer e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30°C) prima di effettuare il test.

- Portare la confezione a temperature ambiente prima di aprirla. Rimuovere il test dalla confezione sigillata e usarlo il prima possibile.
- Posizionare il test su una superficie pulita e piana. Per campioni di sangue intero:
  - Usando una pipetta: per trasferire 5µL di sangue intero nel pozzetto del campione, poi aggiungere 3 gocce di buffer (circa 180µL).
  - Usando un contagocce usa e getta per campioni: tenere il contagocce verticalmente, versare il campione fino alla linea di demarcazione come mostrato nell'illustrazione di seguito (circa 5µL). Trasferire il campione nel pozzetto, poi aggiungere 3 gocce di buffer (circa 180µL), e avviare il timer.
- Attendere la comparsa della/e linea/e colorate/a. **Leggere i risultati a 10 minuti.** Non interpretare i risultati dopo **20 minuti**.



### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

(Si prega di fare riferimento all'illustrazione sopra)

- POSITIVO:**\* Compagnone due o tre linee.  
**Infezione malarica da P. falciparum o mista:** compare una linea nella zona di controllo, una nella zona della linea P.v. e una nella zona P.f.  
**Infezione malarica da P. falciparum:** compare una linea nella zona di controllo e una nella zona P.f.  
**Infezione di specie non falciparum o Plasmodium:** compare una linea nella zona di controllo e una nella zona P.v.  
**\*NOTA:** L'intensità del colore nella zona delle linee P.f. o P.v. varia a seconda della concentrazione di antigeni HRP-II o *P.vivax*LDH presenti nel campione.  
**NEGATIVO:** Compare solo una linea colorata nella zona di controllo.  
**NULLO:** Non compare la linea di controllo. Le ragioni più probabili per la mancata comparsa della linea di controllo sono un volume di campione insufficiente o tecniche procedurali scorrette. Rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo kit. Se il problema persiste, interrompere l'uso del kit immediatamente e contattare il proprio distributore locale.

### CONTROLLO QUALITÀ

Nel test è incluso un controllo procedurale. La linea che compare nella zona di controllo (C) è considerata un controllo procedurale interno. Conferma che è stato usato un volume sufficiente di campione, un'adeguata imbibizione della membrana ed una corretta tecnica procedurale. Gli standard di controllo non sono forniti con il presente kit; tuttavia, si consiglia di testare controlli positivi e negativi come buona pratica di laboratorio a conferma della corretta procedura del test e per verificarne la prestazione.

### LIMITAZIONI

- Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è solo per uso diagnostico *in vitro*. Il test dovrebbe essere usato per l'individuazione di antigeni P.f. e P.v. su campioni di sangue intero. Questo test qualitativo non può determinare né il valore quantitativo né il tasso di incremento degli antigeni P.f. e P.v.
- Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) indicherà soltanto la presenza di antigeni di Plasmodium sp. (P.f. e P.v.) nel campione non dovrebbe essere usato come unicriterio per la diagnosi di infezione malarica.

- Come per tutti i test rapidi, tutti i risultati devono essere interpretati insieme ad altre informazioni cliniche a disposizione del medico.
- Se il risultato del test è negativo e i sintomi clinici persistono, si consigliano ulteriori analisi con altri metodi clinici. Un risultato negativo non preclude in alcun modo la possibilità di un'infezione da malaria.

### VALORI ATTESI

Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è stato confrontato con le tradizionali analisi microscopiche di strisci di sangue sottile e spesso. La correlazione tra i due sistemi è stata di oltre il 99.0%.

### CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

#### Sensibilità

Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è stato testato con il microscopio su campioni clinici. I risultati dimostrano che la sensibilità del Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è >99.9% confrontata con i risultati ottenuti tramite microscopia.

#### Specificità

Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) si serve di anticorpi altamente specifici per gli antigeni della Malaria p.f.-specifico e *P. vivax* LDH nel sangue intero. I risultati dimostrano che la specificità del Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è >99.9%, confrontata con i risultati ottenuti tramite microscopia.

Test Rapido Malaria P.f./P.v.	Metodo		Microscopia		Risultati totali
	Risultati	Positivo		Negativo	
		P. v.	P. f.		
	Positivo	54*	85**	0	134
	Negativo	1	0	500	501
	<b>Risultati totali</b>	<b>55</b>	<b>85</b>	<b>500</b>	<b>635</b>

**Commento:** Sono stati inclusi campioni di sangue infettati con Plasmodium falciparum (n = 85), Plasmodium vivax (n = 54) così come 500 campioni negativi alla malaria da confermare al microscopio.

**Nota:** \* Un campione *P. vivax* ha mostrato una linea P.v. e una P.f..  
 \*\* Due campioni *P. falciparum* hanno mostrato entrambi una linea P.v. e una P.f..  
**Sensibilità relativa per antigeni P.f.-specifici:** 85/85=99.9% (95%CI\*\*\*: 96.5%~100.0%)  
**Sensibilità relativa per antigeni P.v.-specifici:** 54/55=98.2% (95%CI\*\*\*: 90.3%~100.0%)  
**Specificità relativa:** 500/500=99.9% (95%CI\*\*\*: 99.4%~100.0%)  
**Accuratezza:** (54+85+500)/(54+85+1+500)=99.8% (95%CI\*\*\*: 99.1%~100.0%)  
 \*\*\* Intervalli di confidenza

#### Livello minimo di individuazione

Tipo	Parassiti/µL
<i>P. falciparum</i>	200
<i>P. vivax</i>	1500

#### Precisione intra-test

La precisione intra-test è stata determinata usando 15 repliche di quattro campioni: un negativo, un positivo P.f., un positivo P.v. e un doppio positivo P.f. e P.v.. I campioni sono stati identificati correttamente nel >99% dei casi.

#### Inter-test

La precisione inter-test è stata determinata usando 15 test indipendenti degli stessi quattro campioni: un negativo, un positivo P.f., un positivo P.v. e un doppio positivo P.f. e P.v.. Sono stati testati tre lotti diversi di Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) usando questi campioni. I campioni sono stati identificati correttamente nel >99% dei casi.

#### Cross-reattività

Il Test Rapido Malaria P.f./P.v. (Sangue Intero) è stato testato su campioni positivi a HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HcAb, Sifilide, HIV, HCV, H. Pylori, MONO, CMV, Rubella e TOXO. I risultati non hanno mostrato alcuna cross-reattività.

#### Sostanze capaci di interferire

Le seguenti sostanze potenzialmente infettive sono state aggiunte ai campioni negativi e positive alla Malaria.  
 Acetaminofene: 20 mg/dL      Caffaina: 20 mg/dL  
 Acido Acetilsalicilico: 20 mg/dL      Acido Gentisico: 20 mg/dL  
 Acido Ascorbico: 2g/dL      Albumina: 2 g/dL  
 Creatina: 200 mg/dL      Bilirubina: 1g/dL  
 Acido Ossalico: 60mg/dL  
 Nessuna delle sostanze ha interferito con il test alle concentrazioni testate.

### BIBLIOGRAFIA

- Bill MaConell, *Malaria Laboratory Diagnosis*. January 2001.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Comparison of a parasite lactate dehydrogenase-immunochromatographic antigen detection assay with microscopy for the detection of malaria parasites in human blood samples. *Am J Trop Med Hyg*, 1999, Feb; 60(2):173-2.

#### Index of Symbols

	Attenzione, vedi istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Usare entro		Monouso
	Conservare a 2-30°C		Numero Lotto		# Catalogo
	Non usare con confezione danneggiata				

**SCREEN ITALIA Srl** Via Volumnia, 40/b  
 06135 Ponte San Giovanni - Perugia - Italia  
 www.screenitalia.it info@screenitalia.it

