

MALARIA

Ag Pf/Pan Malaria

TIPO DE ENSAYO	CUALITATIVO
MUESTRA	SANGRE
SENSIBILIDAD	100%
ESPECIFICIDAD	98.6%
METODO	INMUNOCROMATOGRÁFICO
PRESENTACION	CASSETTE

INTRODUCCION

El dispositivo de XERION MALARIA Ag PF/PAN Malaria (Sangre total) permite mediante un ensayo Inmuncromatográfico de flujo lateral para la determinación visual cualitativa en un solo paso la presencia de Antígenos del Plasmodio falciparum (Pf), P. vivax (Pv), P. ovale (Po), P. malariae. (Pm) en sangre total, como ayuda en el diagnóstico de la infección por Plasmodium. Los resultados de la prueba son rápidos, fáciles de interpretar de manera visual y no se requiere de instrumentación o reactivos adicionales.

RESUMEN

La Malaria es una enfermedad transmitida por diversas especies de un mosquito hematófago del género anopheles. Esta es causada por cuatro especies de Plasmodium: P.falciparum, P.vivax, P.ovale y P.malariae, los cuales infectan y destruyen los eritrocitos humanos produciendo fiebre, escalofrío, anemia y esplenomegalia. El P.falciparum es el causante de la forma más severa de la enfermedad. P.falciparum y P.vivax son los patógenos más comunes, sin embargo, las condiciones geográficas hace que la distribución de las especies sea variada. Tradicionalmente, la malaria es diagnosticada por la demostración del parásito en coloraciones de Giemsa o Wright en frotis de sangre periférica, y la diferenciación de las especies de plasmodium se distinguen por su aparición en los eritrocitos infectados. La técnica es fiable y exacta en el diagnóstico, siempre y cuando sea realizado por personal capacitado y se hayan usado los protocolos internacionales. La prueba XERION MALARIA Ag Pf/PAN Malaria utiliza un par de anticuerpos monoclonales y policlonales para una proteína específica de P. falciparum (P.f. HRP-II) Proteína Rica en Histidina II, un par de anticuerpos monoclonales para plasmodium Lactato Deshidrogenasa (pLDH), una proteína producida por las cuatro especies de Plasmodium, lo que permite la detección y diferenciación simultánea de la infección por P. falciparum y / o cualquiera de las tres especies de plasmodios.

PRINCIPIO

La prueba rápida XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria (Sangre) es un inmunoensayo cualitativo para la detección de Antígenos de Plasmodium. Esta prueba consta de tres regiones. La región PAN está pre-recubierta con anticuerpo monoclonal anti-pLDH, anticuerpos que detectan la infección con cualquiera de las cuatro especies de plasmodios. La región Pf está recubierta con anticuerpos policlonales anti-pHRP-II para la detección de la infección por P. falciparum. La región C está recubierta con IgG de cabra anti ratón.

Durante el ensayo, un volumen adecuado de la muestra de sangre se distribuye en el pocillo de muestra (S) del cassette de prueba, un tampón de lisis se añade el cual contiene un detergente que lisa los glóbulos rojos. La muestra migra por capilaridad a través de la banda del cassette.

Si se presenta pHRP-II en la muestra se une a los conjugados de pHRP II-oro. Los inmunocomplejos pre-revestidos son capturados en la membrana por los anticuerpos anti-pHRP-II, formando una banda de color Pf, que indica un resultado positivo de la prueba P. falciparum.

Si se presenta pLDH en la muestra se unirá a los conjugados de oro pLDH. Los inmunocomplejos entonces capturado en la membrana por los anticuerpos anti-pLDH, formarán una banda de color Pam que indica un resultado de la prueba positivo para Pv, Po ó Pm.

La ausencia de color en las bandas Pf o PAM sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (Banda C), que debe exhibir siempre un color independientemente del desarrollo del color en cualquiera de las bandas. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

La ausencia de color en la región C indica una prueba inválida

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Un dispositivo de diagnóstico XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria
- Buffer.
- Gotero

MATERIALES NO SUMINISTRADOS

- Reloj o Timer.
- Pipeta automática.
- Elementos para obtención y almacenamiento de la muestra.

OBTENCION LA MUESTRA

La muestra debe tomarse mediante venopunción normal, recolectarse en un recipiente con anticoagulante (EDTA, citrato o heparina) y manejarse con precaución según los procedimientos utilizados en el laboratorio.

Puede tomarse en cualquier momento (no se requiere que el paciente esté en ayunas).

La muestra debe ser analizada preferiblemente el mismo día de su recolección. Si esto no es posible consérvela en refrigeración entre 2 ° C y 8 ° C (máximo 3 días)

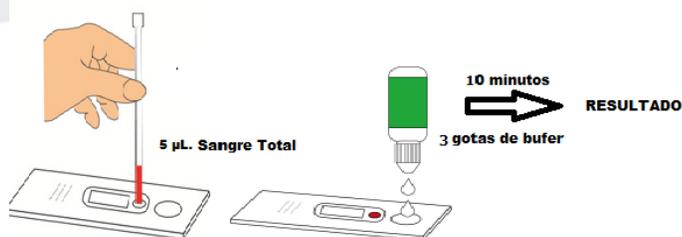
No utilice muestras turbias ya que pueden estar contaminadas por microorganismos, ni hemolizadas porque pueden alterar el resultado.

PROCEDIMIENTO

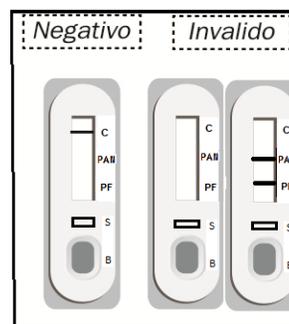
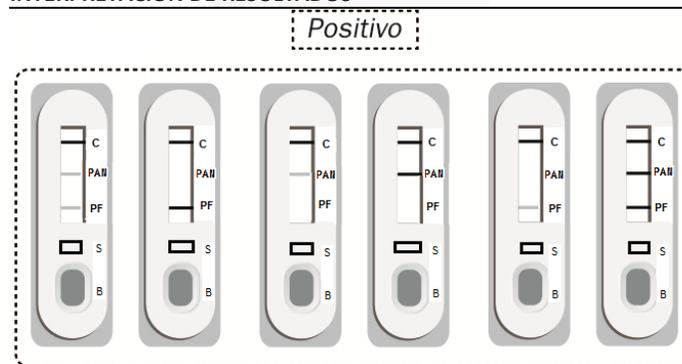
Permita que la muestra y el dispositivo de diagnóstico alcancen la temperatura ambiente antes del ensayo.

1. Extraiga el Cassette y el gotero del empaque de aluminio. Identifíquelo de acuerdo a los procedimientos de su laboratorio.
2. Coloque el cassette en una superficie nivelada y limpia.
3. Coloque una gota 5µl Aprox de sangre total en el orificio absorbente del cassette (S) y 2 gotas (100 µl Aprox) de buffer.
4. Lea los resultados a los 10 minutos.

No interprete los resultados después de los 20 minutos. Deseche el dispositivo luego de realizar la lectura del resultado



INTERPRETACION DE RESULTADOS



POSITIVO: Si además de la banda de control (C), solo en PAN aparece una línea roja indica la presencia de antígeno pLDH. **El resultado es positivo para P. vivax, P. malarie o el P. ovale**

Si además de la banda de control (C), en PF y PAN aparecen unas líneas de tonalidad rojo indica la presencia de ambos antígenos pHRP-II y pLDH. **El resultado es positivo P. falciparum, P. vivax, P. malarie, o el P. ovale**

Si además de la banda de control (C), solo aparece una línea roja en la región PF indica la presencia de de antígeno pHRP-II. **El resultado es positivo P.falciparum**

NEGATIVO: Solo aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece una línea en la región de ensayo PF y PAN.

INVÁLIDO: No aparece una línea coloreada en la región de control (C). Indicando insuficiente volumen de muestra o procedimiento erróneo de las técnicas. Se debe revisar el procedimiento y repetirlo con un nuevo dispositivo de prueba. Si el problema persiste póngase en contacto con su distribuidor local.

LIMITACIONES DEL ENSAYO

El dispositivo **XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria** indica únicamente la presencia de antígenos anti Plasmodium en la muestra y no debe ser usado como único diagnóstico de Malaria. Se recomienda confirmar los resultados positivos con otras técnicas diagnósticas.

Todos los resultados deben ser valorados con información clínica y con criterio médico.

Si el resultado es negativo y los síntomas clínicos persisten se recomienda confirmar con otros métodos de análisis. Un resultado negativo de un sujeto indica la ausencia del antígeno Plasmodium. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección por protozoos Plasmodium

Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de antígeno presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o el antígeno que se detecta no está presente durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge una muestra.

En caso de la co-infección con Pf y cualquiera de los otros tres plasmodios, tanto en la región PF como en la región PAN son visibles. Por lo tanto, interprete el resultado con cautela y tenga en cuenta la historia clínica del paciente.

CONTROL DE CALIDAD

Un procedimiento de control interno está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región línea de control (C), lo que confirma que el volumen de muestra es suficiente y el procedimiento ha sido realizado de forma adecuada.

Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan verificar cada cierto tiempo que los componentes de los dispositivos de diagnóstico operan correctamente utilizando materiales de control diseñados para este fin. Utilícelos de manera similar a una muestra.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los dispositivos **XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria (Sangre)** deben permanecer hasta la fecha de vencimiento en sus respectivos empaques de aluminio sin abrir, a temperatura ambiente, alejados de la luz solar directa, la humedad y el calor excesivo.

La exposición del dispositivo de diagnóstico a temperaturas mayores a 30°C, puede reducir la vida media del producto u ocasionar el daño definitivo del mismo. **NO CONGEELE**

PRECAUCIONES

- Se debe leer y seguir cuidadosamente las instrucciones del procedimiento de ensayo con el objeto de realizarlo en forma correcta.
- Todos los materiales utilizados durante el ensayo deben considerarse como potencialmente infeccioso. Manipúlelos y deséchelos de acuerdo con las normas vigentes.
- Exclusivamente para diagnóstico **IN VITRO** y para ser usados por profesionales.
- No utilice el dispositivo después de la fecha de vencimiento indicada en el empaque de Aluminio.
- No reutilice ninguno de los elementos del dispositivo de diagnóstico.
- Evite humedecer el área de la ventana de visualización de resultados.

- El dispositivo **XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria (Sangre)** está diseñado para detectar la presencia de Antígenos Plasmodium en muestras de sangre. El análisis en otras secreciones corporales no ha sido validado y puede no arrojar resultados incorrectos.

CRITERIOS DE DESEMPEÑO

Un total de 224 muestras fueron evaluadas con **XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria** comparado con otras pruebas comerciales que usan la técnica ELISA, hallando los siguientes resultados:

EIA	XERION MALARIA Pf/Pan Malaria	
	Positivo	Negativo
POSITIVO	24	0
NEGATIVO	3	197
TOTAL	27	197

Sensibilidad Relativa: **100%**, Especificidad Relativa: **98.5%**

Un total de 25 muestras positivas para P.v. diagnosticadas por método microscópico fueron evaluadas con **XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria** los resultados fueron resumidos en la siguiente tabla.

Microscópico	XERION MALARIA Pf/Pan Malaria	
	Positivo	Negativo
POSITIVO	9	0
NEGATIVO	3	212
TOTAL	12	212

Sensibilidad Relativa: **100%**, Especificidad Relativa: **98.6%**

Los dispositivos **XERION MALARIA Ag Pf/Pan Malaria** fueron evaluados por el Instituto de Investigación Tropical Medicina, una afiliación de la OMS

El resultado se muestra en la siguiente tabla

CONTROL DE DILUCIONES		XERION MALARIA Pf/Pan Malaria		
MUESTRA S	PARASITOS/ul	PRUEBA	RESULTADO POSITIVO	% POSITIVO
P5F2 P. falciparum	200	2	2	100
	2000	1	1	100
P5f4 P.falciparum	200	2	2	100
	2000	1	1	100
P5F5 P. falciparum	200	2	2	100
	2000	1	1	100
P5F8 P. falciparum	2000	1	1	100
	200	2	2	100
P5V5 P. vivax	200	2	2	100
	2000	1	1	100
P5V7 P. vivax	200	2	1	100
	2000	1	1	100
P31 P.vivax	200	2	2	100
	2000	1	1	100
		PRUEBA	RESULTADO	%
CONTROL NEGATIVO	0	A	O NEGATIVO	NEGATIVO
		1	1	100

INTERFERENCIAS

Algunas muestras con títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o el factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.

BIBLIOGRAFIA

1. Malaria, p. 421-424. Chapter9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, 2nd ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
2. Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2
3. Guthmann JP, et al: Trans R Soc Trop Med Hyg. 2002, 96(3):254-7
4. Kar I, Eapen A, Adak T, Sharma VP, Indian J Malariol. 1998, 35(3):160- 2
5. Mills CD, Burgess DC, Taylor HJ, Kain KC. Bull World Health Organ. 1999;77(7):553-9 Cloonan N, Fischer K, Cheng Q, Saul A. Mol Biochem Parasitol. 113(2):327-30.

COD ALL