

Prueba Rápida **OnSite**™ Malaria Pf/Pv Ab Combo

REF R0111C CE

USO

La Prueba Rápida **OnSite** Malaria Pf/Pv Ab Combo es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección y diferenciación simultáneas de respuesta de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) a *Plasmodium falciparum* (Pf) y *Plasmodium vivax* (Pv) en suero, plasma o sangre total humanos. Está concebida para ser usada por profesionales como método de pesquijaje y como ensayo preliminar para apoyar el diagnóstico de la infección con *P. falciparum* y *P. vivax*.

Cualquier uso o interpretación del resultado de esta prueba preliminar debe tomar en cuenta otros resultados clínicos y el criterio profesional de los proveedores de atención de la salud. Debe considerarse el uso de métodos de ensayo alternativos para confirmar el resultado obtenido por este dispositivo.

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

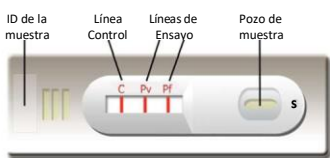
La Malaria es una enfermedad febril hemolítica transmitida por mosquitos que afecta más de 200 millones de personas provocando más de medio millón de muertes cada año¹. Es causada fundamentalmente por cuatro especies del género *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae*. Todas ellas infectan y destruyen los eritrocitos humanos provocando escalofríos, episodios de fiebre, anemia y esplenomegalia. Las formas más severas de la enfermedad, y la mayor cantidad de muertes es causada por *P. falciparum*. Los patógenos más comunes son *P. falciparum* y *P. vivax*, sin embargo, la distribución de las especies varía según la región geográfica².

Tradicionalmente la malaria se diagnostica por detección de los organismos en extensiones de sangre periférica teñidas con Giemsa, y las diferentes especies son identificadas por su apariencia en los eritrocitos infectados³. Esta técnica solo es llevada a cabo por especialistas bien entrenados mediante el uso de protocolos específicos, lo que representa una dificultad para su empleo en regiones remotas o con bajo nivel de desarrollo^{3,4}.

La Prueba Rápida **OnSite** Malaria Pf/Pv Ab Combo detecta anticuerpos presentes en suero, plasma o sangre total, que hayan sido generados en respuesta a la infección por *P. falciparum* o *P. vivax*⁵. Mediante el uso del antígeno específico de Pf, Pf-MSP, y el antígeno específico de Pv, Pv-MSP, la prueba permite a detección y la diferenciación de las infecciones con *P. falciparum* y *P. vivax*. El ensayo puede ser ejecutado en 15-20 minutos por personal mínimamente calificado sin necesidad de equipos de laboratorio.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La Prueba Rápida **OnSite** Malaria Pf/Pv Ab Combo es un inmunoensayo cromatográfico de doble antígeno. La tira en el casete consiste en: 1) una almohadilla color rojo tinto, que contiene los antígenos Pf-MSP y Pv-MSP recombinantes conjugados a oro coloidal (conjugados Pf y conjugados Pv) y un anticuerpo control conjugado a oro coloidal y 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de ensayo (líneas Pv y Pf) y una línea control (línea C). La línea Pf está pre-recubierta con antígeno recombinante Pf-MSP para la detección de anticuerpos a Pf. La línea Pv está pre-recubierta con antígeno recombinante Pv-MSP para la detección de anticuerpos a Pv. La línea C está pre-recubierta con un anticuerpo control.



Cuando se adiciona un volumen adecuado de muestra al pozo de muestra del casete, esta migra por acción capilar a través del casete. Los anticuerpos (IgG, IgM e IgA) a *P. falciparum* o *P. vivax*, si están presentes en la muestra, se unirán a los conjugados Pf y Pv respectivamente. Los inmunocomplejos serán entonces capturados en la membrana por los antígenos pre-cubiertos (Pf-MSP o Pv-MSP) apareciendo un color rojo tinto en la línea Pf (resultado positivo a Pf) y/o en la línea Pv (resultado positivo a Pv).

La ausencia de ambas líneas de ensayo sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (línea C) que debe mostrar un color rojo tinto debido a los inmunocomplejos de los anticuerpos control independientemente del color desarrollado por las líneas de ensayo. Si línea C no aparece, el resultado del ensayo no es válido y la muestra debe ser analizada con otro dispositivo.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

- Bolsa de aluminio sellada que contiene:
 - Un dispositivo o casete
 - Un desecante
- Tubos capilares de doble marca (10/20 µL)
- Diluyente de muestra (REF SB-R0111, 5 mL/botella)
- Un inserto (instrucciones de uso)

MATERIALES QUE PUEDEN SER REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN

- Control Positivo
- Control Negativo

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN

- Reloj o Cronómetro
- Lanceta para pruebas de sangre total

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso Diagnóstico *in Vitro*

- Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos.
- No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atemperere los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos.
- No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
- No utilice sangre hemolizada para la prueba.
- Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.

- Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.
- No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
- Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
- Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes.
- Los resultados de las pruebas deben ser leídos entre 15-20 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados fuera de los 15-20 minutos puede generar resultados erróneos.
- No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. Almacene los dispositivos nuevos y sellados entre 2-30°C. Si se almacena de 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit ni lo exponga a temperaturas superiores a 30°C.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma/Suero

- Paso 1: Recolecte la muestra de sangre por venopunción a un tubo de recolección que contenga EDTA, citrato o heparina para plasma, o un tubo de recolección que no contenga anticoagulantes.
- Paso 2: Para preparar la muestra de plasma, centrifúguese las muestras recolectadas y retire cuidadosamente la plasma en un tubo nuevo pre-etiquetado.
- Paso 3: Para preparar la muestra de suero, permita que la sangre coagule, centrifúguese las muestras recolectadas y retire cuidadosamente el suero en un nuevo tubo pre-etiquetado.

Pruebe los especímenes tan pronto como sea posible después de la recolección. Almacene las muestras a 2-8°C si no se analizan de inmediato. Las muestras se pueden almacenar a 2-8°C durante hasta 5 días. Las muestras deben congelarse a -20°C para almacenamiento más largo.

Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Antes de la prueba, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle suavemente. Las muestras que contienen material particulado visible deben clarificarse por centrifugación antes de la prueba.

No utilice muestras que demuestren una lipemia gruesa, hemólisis macroscópica o turbidez para evitar interferencia con la interpretación del resultado.

Sangre Total

- Paso 1: Las gotas de sangre pueden obtenerse por punción digital o venopunción. Recolecte la muestra de sangre en un tubo que contenga EDTA, Citrato o Heparina. No use sangre hemolizada para la prueba.

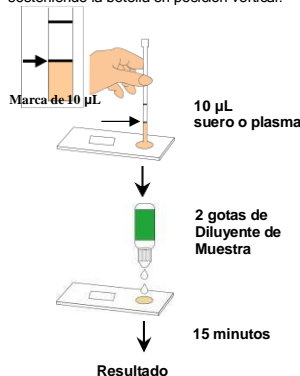
La sangre total debe almacenarse a 2-8°C si no va a ser procesada inmediatamente. Las muestras deben ser procesadas antes de cumplirse 24 horas de su recolección.

PROCEDIMIENTO

- Paso 1: Lleve los componentes de muestras y de prueba a temperatura ambiente, si fueron refrigerados o congelados. Una vez que la muestra se descongeló, mezclar bien antes de realizar el ensayo.
- Paso 2: Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.
- Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.
- Paso 4: El volumen a tomar depende del tipo de muestra.

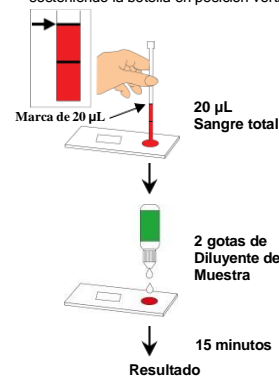
PARA SUERO, PLASMA (10 µL)

- Llene el tubo capilar con suero o plasma sin exceder la marca de muestra (Marca de 10 µL) como se muestra en la imagen. El volumen de muestra es aproximadamente 10 µL.
- Sosteniendo el capilar verticalmente, dispense la totalidad de la muestra en el centro del pozo de muestra asegurándose de que no queden burbujas de aire. Para mayor precisión, transfiera la muestra usando una pipeta capaz de medir un volumen de 10 µL.
- Inmediatamente añada 2 gotas (60-80 µL) de Diluyente de muestra al pozo de la muestra sosteniendo la botella en posición vertical.



PARA SANGRE TOTAL (20 µL)

- Llene el tubo capilar con suero o plasma sin exceder la marca de muestra (Marca de 20 µL) como se muestra en la imagen. El volumen de muestra es aproximadamente 20 µL.
- Sosteniendo el capilar verticalmente, dispense la totalidad de la muestra en el centro del pozo de muestra asegurándose de que no queden burbujas de aire. Para mayor precisión, transfiera la muestra usando una pipeta capaz de medir un volumen de 20 µL.
- Inmediatamente añada 2 gotas (60-80 µL) de Diluyente de muestra al pozo de la muestra sosteniendo la botella en posición vertical.



- Paso 5: Mida el tiempo.

- Paso 6: Lea los resultados a los 15-20 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 min. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 min. **Sin**

embargo, cualquier interpretación de los resultados fuera de los 15-20 min debe ser considerada inválida y la prueba debe repetirse. Después de interpretar los resultados, deseche el dispositivo según las normas locales.

Sensibilidad Relativa: 97.1%, Especificidad Relativa: 96.1%, Concordancia: 96.4%

CONTROL DE CALIDAD

- Control Interno:** Esta prueba contiene un control interno, la banda C. Esta debe aparecer después de adicionarse la muestra y el diluyente. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.
- Control Externo:** Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:
 - Cuando un nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.
 - Cuando se inicia un nuevo kit.
 - Un nuevo envío de kits es utilizado.
 - Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2-30°C.
 - La temperatura del sitio de procesamiento esta por fuera de 15-30°C.
 - Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
 - Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

3. Reactividad Cruzada

No se observaron resultados falso positivos para *Pf* o *Pv* al analizar de 4 a 10 muestras de las siguientes enfermedades o estados especiales:

VHA	VHB	VHC	VHE	VIH
hCG	Dengue	<i>H. pylori</i>	TB	<i>T. pallidum</i>
Fiebre Tifoidea	ANA	HAMA	FR (hasta 8,400 IU/mL)	

4. Interferencia

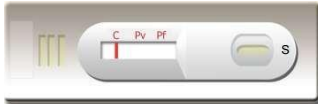
Stancias comunes (como los analgésicos, antipiréticos y componentes de la sangre) pudieran afectar el rendimiento de la Prueba Rápida *OnSite* Malaria Pf/Pv Ab Combo. Esto fue estudiado mediante la adición de estas sustancias en controles estándar positivos y negativos con tres niveles de concentración de anticuerpos a *Pf* y *Pv* (negativos, débilmente positivos, fuertemente positivos). Los resultados se presentan en la tabla siguiente y demuestran que estas sustancias no afectan el rendimiento de la Prueba Rápida *OnSite* Malaria Pf/Pv Ab Combo a las concentraciones ensayadas

Lista de sustancias potencialmente interferentes y concentraciones estudiadas:

1. Albúmina	60 g/L	6. IgG Humana	150 mg/dL
2. Bilirrubina	20 mg/dL	7. Hemoglobina	2 g/L
3. Creatinina	442 µmol/L	8. Heparina	3,000 U/L
4. EDTA	3.4 µmol/L	9. Ácido Salicílico	4.34 mmol/L
5. Glucosa	55 mmol/L	10. Citrato de Sodio	3.8%

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- RESULTADO NEGATIVO:** Si solo aparece la línea C, la ausencia de color en ambas líneas de ensayo (*Pf* y *Pv*) indica que no se detectan anticuerpos a *Pf* y *Pv* en la muestra. El resultado es negativo o no reactivo para ambos, *Pf* y *Pv*.



- RESULTADO POSITIVO:**
 - Si además de la línea C aparece la línea Pv, la prueba indica la presencia de anticuerpos a *Pv* en la muestra. El resultado es positivo o reactivo para *Pv* y negativo o no reactivo para *Pf*.



- Si además de la línea C aparece la línea Pf, la prueba indica la presencia de anticuerpos a *Pf* en la muestra. El resultado es positivo o reactivo para *Pf* y negativo o no reactivo para *Pv*.

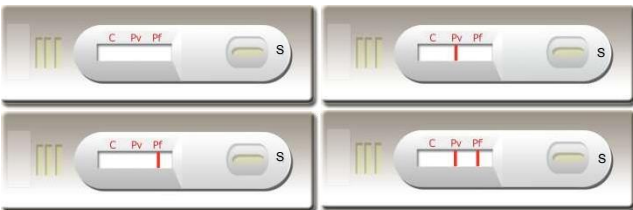


- Si además de la línea C aparecen las líneas Pf y Pv, la prueba indica la presencia de anticuerpos a *Pf* y *Pv* en la muestra. El resultado es positivo o reactivo para *Pf* y *Pv*.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos alternativos y junto con la sintomatología clínica antes de hacer una determinación diagnóstica.

- NO VALIDO:** Si no aparece la línea C, el resultado es no válido independientemente del color desarrollado por las líneas de ensayo como se indica más abajo. Repita la prueba con un nuevo dispositivo.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

1. Ensayo de Desempeño para anticuerpos a Pf

Un total de 195 muestras fueron tomadas a partir de pacientes susceptibles y ensayadas con la Prueba Rápida *OnSite* Malaria Pf/Pv Ab Combo y una prueba comercial. La comparación se observa en la siguiente tabla.

Referencia	Prueba Rápida <i>OnSite</i> Malaria Pf/Pv Ab Combo		
	Positivos	Negativos	Total
Positivos	26	2	28
Negativos	2	165	167
Total	28	167	195

Sensibilidad Relativa: 92.9%, Especificidad Relativa: 98.8%, Concordancia: 97.9%

2. Ensayo de Desempeño para anticuerpos a Pv

Un total de 196 muestras fueron tomadas a partir de pacientes susceptibles y ensayadas con la Prueba Rápida *OnSite* Malaria Pf/Pv Ab Combo y una prueba comercial. La comparación se observa en la siguiente tabla.

Referencia	Prueba Rápida <i>OnSite</i> Malaria Pf/Pv Ab Combo		
	Positivos	Negativos	Total
Positivos	66	2	68
Negativos	5	123	128
Total	71	125	196

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Las instrucciones dadas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los Resultados" deben seguirse cuidadosamente al evaluar la presencia de anticuerpos contra los parásitos *P. falciparum* y *P. vivax* en suero, plasma o sangre total humanos. Cualquier falla en el procedimiento puede llevar a resultados erróneos.
- La Prueba Rápida *OnSite* Malaria Pf/Pv Ab Combo está limitada a la detección cualitativa de anticuerpos a *P. falciparum* y *P. vivax* en suero, plasma o sangre total humanos. La intensidad de las líneas de ensayo no tiene correlación lineal con los títulos de anticuerpo presentes en la muestra.
- Un resultado negativo o no-reactivo indica la ausencia de niveles detectables de anticuerpos a *P. falciparum* y *P. vivax* pero no excluye la posibilidad de exposición a o infección con parásitos *Plasmodium*.
- Un resultado negativo o no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos a *P. falciparum* y *P. vivax* presentes en la muestra son inferiores al nivel de detección de la prueba, o si los mismos no están presentes en el estadio de la infección cuando es recolectada la muestra.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y la prueba da resultados negativos o no reactivos se recomienda el uso de un método diagnóstico alternativo.
- Algunas muestras que contengan títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o factor reumatoideo pueden afectar los resultados.
- Los resultados obtenidos deben ser interpretados junto con otros métodos diagnósticos y la sintomatología del paciente.

REFERENCIAS

- World Malaria Report 2011. World Health Organization. http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/en
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, 2nd ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al. Am J Trop Med. Hyg. 1999, Feb; 60(2):173-2.
- Wilson ML. Arch Pathol Lab Med. 2013 Jun;137(6):805-11.
- Mills CD, Burgess DC, Taylor HJ, Kain KC. Bull World Health Organ. 1999;77(7):553-9.

Índice de Símbolos

	Consulte las instrucciones de uso		Solo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		Fecha de vencimiento
	Número de catálogo		Número de lote		Ensayos por kit
	Almacenar entre 2-30°C		Representante autorizado		No reutilizar
	Fabricante		Fecha de manufactura		

CTK Biotech, Inc.
 13855 Stowe Drive
 Poway, CA 92064, USA
 Tel: 858-457-8698
 Fax: 858-535-1739
 E-mail: info@ctkbiotech.com

MDSS GmbH
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover, Germany

PI-R0111C-Spanish Rev. EP
 Fecha Efectiva: 2019-01-07
 Versión en Español

Solo para exportación. No para ser comercializado en los EUA



www.medibac.com