

NADAL[®] Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test (test cassette)

REF 472038N-25



de Gebrauchsanweisung	2	pt Instruções de Utilização	26
en Instructions for use	6	sv Användarinstruktioner	30
fr Instructions d'utilisation	10	nl Gebruiksaanwijzing	34
es Instrucciones de uso	14	Symbols	39
it Istruzioni per l'uso	18	Our Teams	40
pl Sposób użycia	22		



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum gleichzeitigen qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von HRP II (Histidin-reiches Protein II), spezifisch für *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) und pLDH (Plasmodium Lactatdehydrogenase), spezifisch für *Plasmodium* Spezies (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) in humanen Vollblutproben. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Malaria-Infektion bestimmt und nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt. Alle mit dem NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test reaktiven Proben sollten mit einem zusätzlichen Assay, z. B. einer mikroskopischen Untersuchung eines dünnen Blutaussstriches bestätigt werden.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Malaria ist eine durch Moskitos übertragene, hämolytische, fieberhafte Krankheit. Jährlich werden über 200 Millionen Menschen mit Malaria infiziert und mehr als 400.000 Menschen sterben an dieser Krankheit.¹ Malaria wird durch vier Arten von *Plasmodium* hervorgerufen: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* und *P. malariae*. Alle diese Plasmodien infizieren und zerstören menschliche Erythrozyten und verursachen Symptome wie Fieber, Schüttelfrost, Anämie und Splenomegalie. *P. falciparum* verursacht eine ernsthaftere Krankheit als die anderen Plasmodien-Arten und ist für die meisten Malaria-Todesfälle verantwortlich. *P. falciparum* und *P. vivax* sind die häufigsten Krankheitserreger, jedoch gibt es eine erhebliche geographische Variation in der Verteilung der Plasmodien-Arten.²

Traditionell wird Malaria durch den Nachweis der Organismen in Giemsa-gefärbten peripheren Blutaussstrichen diagnostiziert und die verschiedenen Arten von Plasmodien werden durch ihre Anwesenheit in infizierten Erythrozyten unterschieden². Diese Technik ermöglicht eine genaue und zuverlässige Diagnose, aber nur wenn sie von qualifizierten Mikroskopikern, die festgelegte Protokolle befolgen, durchgeführt wird³, was größte Hindernisse für abgelegene und arme Gebiete der Welt darstellt.

Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test ermöglicht den gleichzeitigen qualitativen Nachweis und die Differenzierung von HRP II, spezifisch für *P. falciparum* und/oder pLDH, das von allen *Plasmodium*-Spezies produziert wird. Der Test verwendet kolloidale Goldkonjugate, um HRP II und pLDH in humanen Vollblutproben selektiv nachzuweisen.

Im Jahr 2010 identifizierten Forscher im peruanischen Amazonasgebiet Patienten, die mit *P. falciparum*-Stämmen infiziert waren, die Deletionen in den Genen für HRP II und HRP III trugen, so dass diese mit HRP II-basierten Schnelltests nicht mehr nachweisbar waren. Die Häufigkeit und globale Verbreitung dieses Phänomens ist noch nicht vollständig geklärt, aber in einer geringen Anzahl von Ländern ist die relative Häufigkeit dieser Deletionsmutanten hoch genug, um den Nutzen von Schnelltests, die ausschließlich HRP II nachweisen, in Frage zu stellen.

3. Testprinzip

Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum gleichzeitigen qualitativen Nachweis und zur Differenzierung

von HRP II, spezifisch für *P. falciparum* und pLDH, spezifisch für *Plasmodium* Spezies (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) in humanen Vollblutproben. Die Membran ist mit anti-HRP II- und anti-pLDH-Antikörpern vorbeschichtet.

Während der Testung reagiert die Vollblutprobe mit den anti-HRP II- und anti-pLDH-Antikörper-Farbkonjugaten, die auf dem internen Teststreifen vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang und reagiert mit anti-HRP II-Antikörpern im Testlinienbereich „Pf“ und mit anti-pLDH-Antikörpern im Testlinienbereich „Pan“. Wenn in der Probe HRP II oder/und pLDH vorhanden sind, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich „Pf“ bzw. „Pan“ oder jeweils eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „Pf“ und „Pan“.

Die Abwesenheit einer farbigen Linie im Testlinienbereich „Pf“ und/oder „Pan“ deutet darauf hin, dass die Probe kein HRP II und/oder pLDH enthält.

Das Erscheinen der farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 25 NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Testkassetten
- 25 Einwegpipetten (10 µL)
- 1 Puffer „Buffer“ (7 mL)
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer
- Probensammelbehälter
- Lanzetten (nur für Vollblut aus Fingerpunktion)
- Alkoholpads
- ggf. Mikropipette

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test-Kits sollten bei 2-30°C gelagert und bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Testkassetten sollten bis zur Verwendung in versiegelten Folienbeuteln verbleiben. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein. Verwenden Sie die Tests nicht nach dem Verfallsdatum. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie den Test nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Tests nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Tests nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.

- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Gesundheitszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Feuchtigkeit und Temperatur können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test kann mit Vollblut (aus Venen- oder Fingerpunktion) durchgeführt werden.

Vollblutprobenentnahme aus Fingerpunktion

- Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder säubern Sie sie mit einem Alkoholpad. Lassen Sie sie trocknen.
- Massieren Sie die Hand ohne dabei die Einstichstelle zu berühren, indem Sie die Hand abwärts in Richtung der Kuppe des Mittel- oder Ringfingers reiben.
- Stechen Sie die Haut mit einer sterilen Lanzette. Wischen Sie den ersten Blutstropfen ab.
- Reiben Sie vorsichtig die Hand vom Handgelenk zur Handfläche und zum Finger, damit sich auf dem Einstichpunkt ein runder Tropfen bildet.

Vollblutproben aus Fingerpunktion sollten unverzüglich getestet werden.

Vollblutproben aus Venenpunktion

Für die Aufbereitung von venösen Vollblutproben sollten Probensammelbehälter mit Antikoagulanzen, wie z. B. EDTA, Natriumcitrat, Kaliumoxalat oder Natrium-Heparin, verwendet werden.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf.

Venöses Vollblut sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden, wenn der Test innerhalb von 3 Tagen nach Probenentnahme

durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei -20°C gelagert werden.

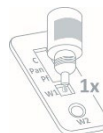
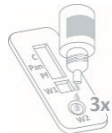
Bringen Sie Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur. Eingefrorene Proben sollten vor Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

Wenn Proben versendet werden sollen, sollten diese unter Einhaltung von geltenden Vorschriften für den Transport ätiologischer Krankheitserreger verpackt werden.

9. Testdurchführung

Bringen Sie alle Tests, Proben, Puffer und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

1. Entnehmen Sie die Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich. Die besten Ergebnisse werden erhalten, wenn der Test unverzüglich nach der Öffnung des Folienbeutels durchgeführt wird. Kennzeichnen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
2. Legen Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.
3. Halten Sie die Pipette senkrecht, saugen Sie damit die Probe bis zur ersten Verbreiterung (ca. 10 µL) auf und geben Sie sie in die obere Vertiefung (**W1**) der Testkassette. Anschließend geben Sie 3 volle Tropfen Puffer in die untere Vertiefung (**W2**). Vermeiden Sie Luftblasen.
4. Starten Sie den Timer.
5. Genau nach **5 Minuten** geben Sie 1 vollen Tropfen Puffer in die obere Vertiefung (**W1**).
6. Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Testergebnis nach weiteren 10 Minuten aus. Nach insgesamt mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Positiv für *P. falciparum*-Infektion

Es erscheinen zwei farbige Linien im Ergebnisfeld. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „Pf“. Das Testergebnis deutet auf das Vorhandensein von HRP II und damit auf eine Infektion mit *P. falciparum* hin.



Positiv für nicht-*P. falciparum*-Infektion (*P. vivax*, *P. malariae* oder *P. ovale*)*

Es erscheinen zwei farbige Linien im Ergebnisfeld. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „Pan“. Das Testergebnis deutet auf das Vorhandensein von pLDH und damit auf eine Infektion mit *P. vivax*, *P. malariae* oder *P. ovale* hin.

* bei Infektionen mit *P. falciparum* HRP II-Deletionsmutanten erscheint die Linie im Testlinienbereich „Pf“ nicht. Daher könnte ein solches Ergebnis in Regionen, in denen HRP II-Deletionsmutanten endemisch sind, auch auf eine Infektion mit der *P. falciparum*-Deletionsmutante allein oder auf eine Mischinfektion hinweisen. Eine Unterscheidung zwischen den Infektionstypen ist nicht möglich.

Positiv für *P. falciparum*/gemischte Plasmodium-Infektion

Es erscheinen drei farbige Linien im Ergebnisfeld. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C) und jeweils eine farbige Linie erscheint in den Testlinienbereichen „Pf“ und „Pan“. Das Testergebnis deutet auf das Vorhandensein von HRP II sowie pLDH und damit auf eine Einzelinfektion mit *P. falciparum* oder mit mehreren Plasmodium Arten (*P. vivax*, *P. malariae* und/oder *P. ovale*) inklusive *P. falciparum* hin.

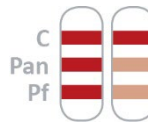
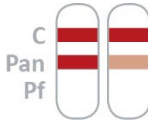
Hinweis: Proben mit positiven Ergebnissen sind durch eine alternative Testmethode sowie durch klinische Befunde zu bestätigen, bevor das Ergebnis für definitiv positiv erklärt wird.

Negativ

Es erscheint nur eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). In den Testlinienbereichen „Pf“ und „Pan“ erscheint keine farbige Linie, dies weist darauf hin, dass keine Plasmodien-Antigene nachgewiesen wurden.

Ungültig

Die Kontrolllinie (C) erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.



Hinweis:

Die Farbtintensität im Testlinienbereich kann abhängig von der Konzentration der Analyten, die in der Probe vorhanden sind, variieren. Daher sollte jede Farbtönung im Testlinienbereich als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytenkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle: Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchlässig ist.

Die Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch ausgelegt. Der Test sollte nur zum qualitativen Nachweis von *P. falciparum*-, *P. vivax*-, *P. malariae*- oder *P. ovale*-Antigenen in humanen Vollblutproben verwendet werden. Weder der quantitative Wert noch die Steigerungsrate der Konzentration von Plasmodium-Parasiten kann mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Wie in Abschnitt 10 "Testauswertung" beschrieben, kann eine Infektion mit *P. falciparum* HRP II-Deletionsmutanten nicht von einer Infektion mit nicht-*P. falciparum*-Arten unterschieden werden. Daher müssen in Regionen, in denen solche Mutanten endemisch sind, zusätzliche Tests durchgeführt werden, insbesondere wenn eine eindeutige Differenzierung über das Patientenmanagement erforderlich ist.
- Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test zeigt nur das Vorhandensein von *P. falciparum*-, *P. vivax*-, *P. malariae*- oder *P. ovale*-Antigenen in der Probe an und sollte nicht als einziges Kriterium für die Diagnose einer Malaria-Infektion verwendet werden.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollten alle Ergebnisse im Zusammenhang mit weiterer klinischer Information, die dem Arzt zur Verfügung steht, ausgewertet werden.
- Wenn das Testergebnis negativ ausfällt und klinische Symptome weiter bestehen, werden weitere Tests unter Verwendung anderer, klinischer Methoden empfohlen. Ein negatives Ergebnis schließt zu keinem Zeitpunkt eine mögliche Malaria-Infektion aus.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Analytische Sensitivität

Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test zum Nachweis von *P. falciparum*- und nicht-*P. falciparum*-Infektion abhängig von der Parasitenkonzentration:

	Parasitenanzahl/µL im Blut	Mikroskopie	NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Sensitivität
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
	Total	53	52	98,1%
Nicht- <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
	Total	158	157	99,4%

Klinische Sensitivität und Spezifität

Methode		Referenzmethode (Mikroskopie)				
		Positiv		Negativ	Total	
		Pv	Pf			
NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Positiv	Pan	157	0	0	157
		Pf	0	52	3	55
	Negativ	1	1	324	326	
Total		158	53	327	538	

Hinweis: Die Vergleichsstudie für die "Pan"-Linie wurde ausschließlich mit *P. vivax*-positiven Blutproben durchgeführt.

Relative Sensitivität: $(157+52)/(158+53) = 99,1\%$ (96,6%-99,7%)

Relative Spezifität: $324/327 = 99,1\%$ (97,3%-99,7%)

Gesamtübereinstimmung: $(157+52+324)/(158+53+327) = 99,1\%$ (97,8%-99,6%)

*95% Konfidenzintervall

Präzision

Die Reproduzierbarkeit wurde durch das Testen von Triplicaten von 6 Proben bestimmt. Die Wiederholbarkeit wurde innerhalb der Studie zur Reproduzierbarkeit ermittelt. Die Testungen wurden an 5 verschiedenen Tagen von 3 Anwendern an 3 Teststandorten mit 3 unabhängigen Chargen des NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Tests durchgeführt.

Der NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test zeigte eine akzeptable Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit, wenn er von ausgebildeten Fachleuten durchgeführt wurde. Die negativen und positiven Werte wurden in >99% der Fälle richtig bestimmt.

Interferierende Substanzen

Proben wurden mit den folgenden potentiell interferierenden Substanzen versetzt und mit dem NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test evaluiert.

Potentiell interferierende Substanzen	Konzentration
Hämoglobin	2 g/L
Bilirubin (konjugiert)	342 µmol/L
Bilirubin (nicht konjugiert)	342 µmol/L
Triglyceride	37 mmol/L
Protein (total)	120 g/L
Albumin	60 g/L
γ Globulin	60 g/L
Humane-anti-Maus-Antikörper (HAMA)	780,73 IU/mL
Rheumafaktor	1035 IU/mL
Metronidazol	701 µmol/L
Chinin	148 µmol/L
Rifampicin	78,1 µmol/L
Aspirin	4,34 mmol/L
Paracetamol	199 µmol/L
Ibuprofen	2425 µmol/L
Coffein	308 µmol/L
Ethanol	86,8 mmol/L

Keine dieser Substanzen interferierte mit dem Test bei den getesteten Konzentrationen.

Kreuzreaktivität

Klinische Proben wurden mit dem NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test auf Kreuzreaktivität mit nicht verwandten Infektionen evaluiert.

Nicht verwandte Infektionen	Anzahl der Proben
anti-HIV+	10
HBsAg+	20
anti-HCV+	10
anti-HAV+	20
anti-Rubella+	20
anti-CMV+	20
anti-HSV-1+	20
anti-HSV-2+	20
Typhus+	20
Gelbfieber+	5
Denguefieber+	5
anti-Influenza A+	20
anti-Influenza B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Syphilis+	20
Tuberkulose+	10

Bei der Testung mit dem NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test wurde keine Kreuzreaktivität mit den oben genannten nicht verwandten Infektionen beobachtet.

14. Referenzen

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber J.L.: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2.

Rev. 0, 2023-11-13 OM/SDe

1. Intended Use

The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the simultaneous, qualitative detection and differentiation of HRP II (histidine-rich protein II) specific to *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) and pLDH (plasmodium lactate dehydrogenase) specific to *Plasmodium* species (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) in human whole blood specimens. The test is intended for use as an aid in the diagnosis of malaria infection and is designed for professional use only. Any specimen found to be reactive with the NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test should be confirmed with a supplementary assay, e. g. the microscopic examination of a thin blood smear.

2. Introduction and Clinical Significance

Malaria is a mosquito-borne, haemolytic, febrile illness. It infects over 200 million people and kills more than 400,000 people annually.¹ Malaria is caused by four species of *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae*. All these plasmodia infect and destroy human erythrocytes, causing such symptoms as chills, fever, anaemia and splenomegaly. *P. falciparum* causes more severe disease than the other *Plasmodium* species and accounts for most malaria-related deaths. *P. falciparum* and *P. vivax* are the most common pathogens; there is, however, a considerable geographic variation in the distribution of *Plasmodium* species.²

Traditionally, malaria is diagnosed by the detection of organisms on Giemsa-stained thick smears of peripheral blood, and different *Plasmodium* species are differentiated by their presence in infected erythrocytes.² The technique provides an accurate and reliable diagnosis, but only when performed by skilled microscopists using defined protocols,³ which presents major hindrances for remote and poor areas of the world.

The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test enables the simultaneous, qualitative detection and differentiation of HRP II specific to *P. falciparum* and/or pLDH produced by all *Plasmodium* species. The test utilises colloidal gold conjugates to selectively detect HRP II and pLDH in human whole blood samples.

In 2010, researchers working in the Peruvian Amazon region identified patients infected with *P. falciparum* strains that carried HRP II and HRP III gene deletions, rendering them undetectable by HRP II-based rapid tests. The frequency and global distribution of this phenomenon is not yet fully understood, but in a limited number of countries, the relative incidence of these deletion mutants has been found to be high enough to question the usefulness of rapid tests detecting only HRP II.

3. Test Principle

The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the simultaneous, qualitative detection and differentiation of HRP II specific to *P. falciparum* and pLDH specific to *Plasmodium* species (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) in human whole blood specimens. The membrane is pre-coated with anti-HRP II antibodies and anti-pLDH antibodies.

During testing, the whole blood sample reacts with the anti-HRP II antibodies and anti-pLDH antibodies-dye conjugates, which are pre-coated on the internal test strip. The mixture then migrates along the membrane by capillary action and reacts with anti-HRP II antibodies in the test line region 'Pf' and with anti-pLDH antibodies in the test line region 'Pan'. If the sample contains HRP II or/and pLDH, a coloured line will form in the test line region 'Pf' or 'Pan', or a coloured line will form in both the 'Pf' test line region and the 'Pan' test line region.

The absence of a coloured line in the test line region 'Pf' and/or 'Pan' indicates that the sample does not contain HRP II and/or pLDH.

The formation of a coloured line in the control line region (C) serves as a procedural control, indicating that the proper volume of sample has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 25 NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species test cassettes
- 25 disposable pipettes (10 µL)
- 1 buffer (7 mL)
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Timer
- Sample collection container
- Lancets (for fingerstick whole blood only)
- Alcohol pads
- Micropipette (if necessary)

6. Storage & Stability

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species test kits should be stored at 2-30°C and used by the expiry date indicated on the packaging. Test cassettes should remain in sealed pouches until use. Do not freeze test kits. Do not use tests beyond the expiry date. Care should be taken to protect components of the test kit from contamination. Do not use the test if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to false results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiry date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of samples by using a new sample collection container for each sample obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not eat, drink or smoke in the area where samples and test kits are handled.

- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when samples are being assayed.
- Handle all samples as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of samples.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be disposed of in accordance with local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test can be performed using whole blood (from venipuncture or fingerstick).

To collect fingerstick whole blood samples:

- Wash the patient's hand with soap and warm water or clean it with an alcohol pad. Allow it to dry.
- Massage the hand, without touching the puncture site, by rubbing along the hand towards the fingertip of the middle or ring finger.
- Puncture the skin with a sterile lancet. Wipe away the first drop of blood.
- Gently rub the hand from the wrist to the palm, and then to the finger to form a rounded drop of blood over the puncture site.

Fingerstick whole blood should be tested immediately.

Venipuncture whole blood samples

Containers containing anticoagulants, such as EDTA, sodium citrate, potassium oxalate or sodium heparin should be used for the preparation of venous whole blood samples.

Testing should be performed immediately after sample collection. Do not leave samples at room temperature for prolonged periods of time.

If the test is to be run within 3 days of sample collection, whole blood collected by venipuncture should be stored at 2-8°C. For long-term storage, samples should be kept at -20°C.

Bring samples to room temperature prior to testing. Frozen samples should be completely thawed and mixed well prior to testing. Samples should not be frozen and thawed repeatedly.

If samples are to be shipped, they should be packed in compliance with all applicable regulations for the transportation of etiologic agents.

9. Test Procedure

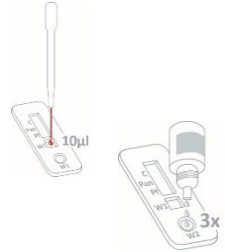
Bring tests, samples, buffer and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

1. Remove the test cassette from the foil pouch and use it as soon as possible. The best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch.

Label the test cassette with the patient or control identification.

2. Place the test cassette on a clean and level surface.

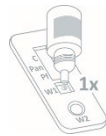
3. Holding the pipette vertically, draw the sample up to the first widening (approximately 10 µL) and add it to the upper well (W1) of the test cassette, then add 3 full drops of buffer to the lower well (W2). Avoid air bubbles.



4. Start the timer.



5. After exactly 5 minutes, add 1 full drop of buffer to the upper well (W1).



6. Wait for the coloured line(s) to appear. Read the test result after a further 10 minutes. Do not interpret the result after more than 20 minutes in total.



10. Result Interpretation

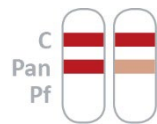
Positive for *P. falciparum* infection

Two coloured lines appear in the result area. One coloured line appears in the control line region (C) and the other coloured line appears in the test line region 'Pf'. The test result indicates the presence of HRP II and therefore, a *P. falciparum* infection.



Positive for non-*P. falciparum* infection (*P. vivax*, *P. malariae* or *P. ovale*)*

Two coloured lines appear in the result area. One coloured line appears in the control line region (C) and the other coloured line appears in the test line region 'Pan'. The test result indicates the presence of pLDH and therefore, a *P. vivax*, *P. malariae* or for *P. ovale* infection.



* in infections with *P. falciparum* HRP II deletion mutants the line in the test line region 'Pf' does not appear. Therefore, in regions endemic for HRP II deletion mutants, this kind of result could also indicate an infection with the *P. falciparum* deletion mutant alone or a mixed infection. A differentiation between infection types is not possible.

Positive for *P. falciparum*/mixed *Plasmodium* infection

Three coloured lines appear in the result area. One line appears in the control line region (C) and one coloured



line appears in each test line region 'Pf' and 'Pan'. The test result indicates the presence of both HRP II and pLDH, and therefore, either a single infection with *P. falciparum* or infection with several *Plasmodium*-species (*P. vivax*, *P. malariae* and/or *P. ovale*), including *P. falciparum*.

Note: Samples with positive results should be confirmed with alternative testing method(s) and clinical findings before a positive determination is made.

Negative

Only one coloured line appears in the control line region (C). No coloured line appears in the test line region 'Pf' and 'Pan', which indicates that no *Plasmodium* antigens have been detected.



Invalid

The control line (C) fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.



Note:

The colour intensity in the test line region may vary depending on the concentration of the analyte present in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the concentration of the analyte in the specimen.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the control line failure.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of external control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test is for professional *in-vitro* diagnostic use only. The test should only be used for the qualitative detection of *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* or *P. ovale* antigens in human whole blood samples. Neither the quantitative value nor the rate of increase in the concentration of *Plasmodium* parasites can be determined with this qualitative test.

- As described in section 10 'Result Interpretation', infection with *P. falciparum* HRP II deletion mutants cannot be distinguished from infection with non-*P. falciparum* species. Therefore, in areas where such mutants are endemic, additional testing must be done, especially if a clear differentiation is required for patient management decisions.
- The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test only indicates the presence of *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* or *P. ovale* antigens in the sample and should not be used as the sole criterion for the diagnosis of a malaria infection.
- As with all diagnostic tests, all results should be interpreted in conjunction with other clinical information available to the physician.
- If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of a malaria infection.

13. Performance Characteristics

Analytical sensitivity

The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test for the detection of *P. falciparum* infection and non-*P. falciparum* infection according to the parasite level:

	No. of parasites/ μ L of blood	Microscopy	NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Sensitivity
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91.7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
	Total	53	52	98.1%
Non- <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97.4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
	Total	158	157	99.4%

Clinical sensitivity and specificity

Method		Reference method (microscopy)			
		Positive		Negative	Total
NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Positive	Pv	Pf		
				157	0
		0	52	3	55
	Negative	1	1	324	326
	Total	158	53	327	538

Note: The comparison study for the 'Pan' line was carried out using blood specimens positive only for *P. vivax*.

Relative sensitivity: $(157+52)/(158+53)=99.1\%$ (96.6%-99.7%)

Relative specificity: $324/327=99.1\%$ (97.3%-99.7%)

Overall agreement: $(157+52+324)/(158+53+327)=99.1\%$
(97.8%-99.6%)

*95% Confidence interval

Precision

Reproducibility was established by testing triplicates of 6 specimens. Repeatability was established within the reproducibility study. Testing was performed by 3 operators, using 3 independent NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species test lots at 3 testing sites on 5 separate days.

The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test demonstrated acceptable repeatability and reproducibility when performed by trained professionals. The negative and positive values were correctly identified >99% of the time.

Interfering substances

Specimens were spiked with the following potentially interfering substances and evaluated using the NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test.

Potentially interfering substances	Concentration
Haemoglobin	2 g/L
Bilirubin (conjugated)	342 µmol/L
Bilirubin (unconjugated)	342 µmol/L
Triglycerides	37 mmol/L
Protein (total)	120 g/L
Albumin	60 g/L
γ globulin	60 g/L
Human anti-mouse antibody (HAMA)	780.73 IU/mL
Rheumatoid factor	1035 IU/mL
Metronidazole	701 µmol/L
Quinine	148 µmol/L
Rifampicin	78.1 µmol/L
Aspirin	4.34 mmol/L
Paracetamol	199 µmol/L
Ibuprofen	2425 µmol/L
Caffeine	308 µmol/L
Ethanol	86.8 mmol/L

None of the substances interfered with the assay at the concentrations tested.

Cross-reactivity

Clinical specimens were evaluated for cross-reactivity with unrelated infections using the NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test.

Unrelated infections	No. of specimens
anti-HIV+	10
HBsAg+	20
anti-HCV+	10
anti-HAV+	20
anti-Rubella+	20
anti-CMV+	20
anti-HSV-1+	20
anti-HSV-2+	20
Typhoid fever+	20
Yellow fever+	5
Dengue fever+	5

Unrelated infections	No. of specimens
anti-Influenza A+	20
anti-Influenza B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Syphilis+	20
Tuberculosis+	10

No cross-reactivity was observed with the aforementioned unrelated infections when tested using the NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test.

14. References

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2.

Rev. 0, 2023-11-13 OM/SDE

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species est un test chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative et la différenciation simultanées de la HRP II (protéine riche en histidine II) spécifique de *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) et de la pLDH (*Plasmodium lactate déshydrogénase*), spécifique des espèces de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) dans des échantillons de sang total humain. Le test est une aide au diagnostic d'une infection à la malaria et est réservé à un usage professionnel. Tous les échantillons indiquant une réaction positive au test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species doivent être confirmés par un test supplémentaire, par ex. par l'examen microscopique d'un frottis sanguin mince.

2. Introduction et signification clinique

La malaria est une maladie hémolytique, fébrile, transmise par les moustiques. Chaque année, plus de 200 millions de personnes sont infectées par la malaria et plus de 400 000 personnes meurent de cette maladie.¹ La malaria est causée par quatre types de *Plasmodium* : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*. Tous ces *Plasmodium* infectent et détruisent les érythrocytes humains et provoquent des symptômes tels que la fièvre, des frissons, de l'anémie et de la splénomégalie. *P. falciparum* provoque une maladie plus grave que les autres espèces de *Plasmodium* et est responsable de la plupart des décès dus à la malaria. *P. falciparum* et *P. vivax* sont les agents pathogènes les plus répandus, mais il existe des variations géographiques considérables dans la répartition des espèces de *Plasmodium*.

Traditionnellement, la malaria est diagnostiquée par la mise en évidence des organismes dans des frottis de sang périphérique colorés au Giemsa, et les différentes espèces de *Plasmodium* se distinguent par leur présence dans les érythrocytes infectés². Cette technique permet d'établir un diagnostic précis et fiable, mais uniquement lorsqu'elle est réalisée par des microscopistes qualifiés qui suivent des protocoles établis³, ce qui constitue un obstacle majeur pour les zones éloignées et pauvres du monde.

Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species permet la détection qualitative et la différenciation simultanées de la HRP II, spécifique de *P. falciparum* et/ou de la pLDH qui est produite par toutes les espèces de *Plasmodium*. Le test utilise des conjugués d'or colloïdal pour détecter sélectivement la HRP II et la pLDH dans des échantillons de sang total humain.

En 2010, des chercheurs travaillant dans la région de l'Amazonie péruvienne ont identifié des patients infectés par des souches de *P. falciparum* présentant des délétions des gènes HRP II et HRP III, les rendant indétectables par les tests rapides basés sur la HRP II. La fréquence et la répartition mondiale de ce phénomène ne sont pas encore bien comprises, mais dans un nombre limité de pays, l'incidence relative de ces mutations (délétion) s'est avérée suffisamment élevée pour remettre en question l'utilité des tests rapides ne détectant que la HRP II.

3. Principe du test

Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species est un test chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative et la différenciation simultanées de la HRP II, spécifique de

Plasmodium falciparum (*P. falciparum*) et de la pLDH, spécifique des espèces de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) dans des échantillons de sang total humain. La membrane est recouverte d'anticorps anti-HRP-II et anti-pLDH.

Pendant le test, l'échantillon de sang total réagit avec les conjugués colorés des anticorps anti-HRP II et anti-pLDH qui sont immobilisés sur la bandelette de test interne. Le mélange migre ensuite par capillarité chromatographique le long de la membrane et réagit avec les anticorps anti-HRP II de la zone de test « Pf » et les anticorps anti-pLDH de la zone de test « Pan ». Si la HRP II ou/et la pLDH sont présentes dans l'échantillon, une ligne colorée apparaît dans la zone de test « Pf » ou « Pan » ou, respectivement, une ligne colorée apparaît dans les zones de test « Pf » et « Pan ».

L'absence de ligne colorée dans la zone de test « Pf » et/ou « Pan » indique que l'échantillon ne contient pas de HRP II et/ou de pLDH.

L'apparition d'une ligne colorée dans la zone de contrôle (C) sert de procédure de contrôle et indique qu'un volume suffisant d'échantillon a été ajouté et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Réactifs et matériels fournis

- 25 cassettes de test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species
- 25 pipettes à usage unique (10 µL)
- 1 solution tampon « Buffer » (7 mL)
- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Chronomètre
- Récipient collecteur
- Lancettes (pour les prélèvements de sang total par ponction du doigt uniquement)
- Tampons alcoolisés
- Micropipette si nécessaire

6. Conservation et stockage des réactifs

Les kits NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species doivent être conservés entre 2 et 30°C et utilisés jusqu'à la date de péremption figurant sur l'emballage. Les cassettes de test doivent rester dans leur emballage d'origine jusqu'à leur utilisation. Ne pas congeler les tests. Ne pas utiliser les tests après expiration de la date de péremption. Protéger les composants du kit de toute contamination. Ne pas utiliser le test s'il présente des signes de contamination microbienne ou de précipitation. La contamination biologique des doseurs, récipients et réactifs peut entraîner des résultats erronés.

7. Avertissement et précautions

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Lire la notice d'utilisation attentivement avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser les tests après la date de péremption figurant sur l'emballage.
- Ne pas utiliser les tests si l'emballage est endommagé.
- Ne pas réutiliser les tests.
- Les échantillons ne doivent pas entrer en contact avec la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats).

- Ne pas toucher la zone réactive (champ de lecture des résultats) afin d'éviter toute contamination.
- Pour éviter toute contamination croisée, un collecteur d'échantillons dédié doit être utilisé pour chaque échantillon.
- Ne pas interchanger les composants de différents lots.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation des échantillons.
- Lors de la manipulation des tests, porter des vêtements de protection : blouse, gants à usage unique et lunettes de protection.
- Manipuler tous les échantillons comme de potentiels composants infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifie pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses. Il est recommandé d'appliquer les mesures de précaution nécessaire (ne pas avaler ou inhaler).
- L'humidité et la température peuvent influencer les résultats du test.
- Le matériel utilisé pour la réalisation des tests doit être éliminé selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et conservation des prélèvements

Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species s'effectue sur des échantillons de sang total (par ponction veineuse ou du doigt).

Échantillons de sang total par ponction du doigt

- Laver la main du patient au savon et à l'eau tiède ou la désinfecter avec un tampon imprégné d'alcool. La laisser sécher.
- Masser la main sans toucher le point de ponction en frottant la main vers le haut du majeur ou de l'annulaire.
- Piquer la peau avec une lancette stérile. Essuyer la première goutte de sang.
- Frotter doucement la main du poignet vers la paume jusqu'au doigt, de sorte qu'une goutte de sang se forme sur le point de ponction.

Les échantillons de sang total par ponction du doigt doivent être analysés immédiatement.

Échantillons de sang total par ponction veineuse

Afin de prélever des échantillons de sang total par ponction veineuse, utiliser des récipients collecteurs contenant des anticoagulants, tels que EDTA, citrate de sodium, oxalate de potassium ou héparine de sodium.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée.

Si le test est effectué dans les 3 jours suivant le prélèvement, le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2 et 8°C. Pour une conservation plus longue, les prélèvements doivent être conservés à une température de -20°C.

Avant de commencer le test, amener les échantillons à température ambiante. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et bien mélangés avant la réalisation du test. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

Si des échantillons doivent être expédiés, veiller à les emballer conformément aux réglementations en vigueur concernant le transport des agents pathogènes étiologiques.

9. Procédure du test

Amener tous les tests, échantillons, tampons et/ou contrôles à température ambiante (entre 15° et 30°C) avant la réalisation du test.

1. Retirer la cassette de son emballage d'origine et réaliser le test rapidement. Les meilleurs résultats sont obtenus si le test est exécuté immédiatement après ouverture de l'emballage. Inscrire sur la cassette le numéro d'identification du patient ou du contrôle.
2. Placer la cassette sur une surface propre et plane.
3. Tenir la pipette à la verticale, aspirer ainsi l'échantillon jusqu'au premier élargissement (env. 10 µL) et le déposer dans le puits de dépôt supérieur (W1) de la cassette. Ajouter ensuite 3 gouttes pleines de tampon dans le puits de dépôt inférieur (W2). Éviter la formation de bulle d'air.
4. Démarrer le chronomètre.
5. Après exactement 5 minutes, ajouter 1 goutte pleine de tampon dans le puits de dépôt supérieur (W1).
6. Attendre que la/les ligne(s) colorée(s) apparaisse(nt). Interpréter le résultat du test après 10 minutes supplémentaires. Ne plus interpréter le résultat du test après plus de 20 minutes au total.



10. Interprétation des résultats

Positif à une infection à *P. falciparum*

Deux lignes colorées apparaissent dans la fenêtre de lecture des résultats. Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C), l'autre ligne de couleur apparaît dans la zone de test « Pf ». Le résultat du test indique la présence de HRP II et donc une infection à *P. falciparum*.



Positif à une infection à non *P. falciparum* (*P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale*)*

Deux lignes colorées apparaissent dans la fenêtre de lecture des résultats. Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C), l'autre ligne de couleur apparaît dans la zone de test « Pan ». Le



résultat du test indique la présence de pLDH et donc une infection à *P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale*.

* En cas d'infection par *P. falciparum* avec mutations (délétion) de HRP II, la ligne dans la zone de test "Pf" n'apparaît pas. Par conséquent, dans les régions endémiques où les mutations (délétion) de HRP II sont présentes, ce type de résultat peut également indiquer une infection par *P. falciparum* avec mutations (délétion) uniquement ou une infection mixte. Il n'est pas possible de différencier les types d'infection.

Positif à une infection à *P. falciparum*/ infection mixte à *Plasmodium*

Trois lignes colorées apparaissent dans la fenêtre de lecture des résultats. Une ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle (C) et, respectivement, une ligne colorée dans les zones de test « Pf » et « Pan ». Le résultat du test indique la présence de HRP II ainsi que de pLDH et donc une infection à *P. falciparum* ou à plusieurs espèces de *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. malariae* et/ou *P. ovale*) dont *P. falciparum*.



Remarque : Les échantillons indiquant des résultats positifs doivent être confirmés par une méthode de test alternative et des analyses cliniques avant que le résultat ne soit déclaré définitivement positif.

Négatif

Une seule ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle (C). Aucune ligne colorée n'apparaît dans les zones de test « Pf » et « Pan », ce qui indique qu'aucun antigène de *Plasmodium* n'a été détecté.



Non valide

La ligne de contrôle (C) n'apparaît pas. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation imparti doivent être jetés. Contrôler la procédure d'exécution du test et renouveler le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste, cesser d'utiliser le kit de test et contacter votre distributeur.



Remarque :

L'intensité de la couleur des lignes dans la zone de test peut varier en fonction de la concentration des analytes présents dans l'échantillon. Par conséquent, toute apparition de lignes dans les zones de test doit être considérée comme un résultat positif. Ce test est uniquement un test qualitatif et ne peut déterminer la concentration en analytes dans l'échantillon.

Un volume d'échantillon insuffisant, des tests périmés ou une procédure incorrecte sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne :

Une ligne colorée apparaissant dans la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Elle confirme que le volume d'échantillon est suffisant, que la manipulation a été effectuée correctement et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) recommandent l'utilisation de matériel de contrôle externe afin de vérifier la performance du kit de test.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species est réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel. Le test ne doit être utilisé que pour la détection qualitative des antigènes de *P. falciparum*-, *P. vivax*-, *P. malariae*- ou *P. ovale* dans des échantillons de sang total humain. Ce test qualitatif ne permet ni de déterminer la valeur quantitative ni le taux de concentration des parasites *Plasmodium*.
- Comme décrit dans la section 10 "Interprétation des résultats", une infection par *P. falciparum* avec mutations (délétion) de HRP II ne peut être distinguée d'une infection par des espèces autres que *P. falciparum*. Par conséquent, dans les régions où ces mutations sont endémiques, des tests supplémentaires doivent être effectués, en particulier si une différenciation claire est nécessaire pour prendre des décisions concernant la prise en charge du patient.
- Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species indique exclusivement la présence d'antigènes de *P. falciparum*-, *P. vivax*-, *P. malariae*- ou *P. ovale* dans l'échantillon et ne peut être employé comme seul critère de diagnostic d'une infection à la malaria.
- Comme pour tous les tests de diagnostic, tous les résultats doivent être interprétés en lien avec les autres informations cliniques qui sont à la disposition du médecin.
- Si les résultats du test sont négatifs et que les symptômes cliniques persistent, il est recommandé de répéter le test avec d'autres méthodes cliniques de diagnostic. Un résultat négatif n'exclut à aucun moment la possibilité d'une infection à la malaria.

13. Performances du test

Sensibilité analytique

Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species pour la détection des infections à *P. falciparum* et non *P. falciparum* en fonction de la concentration parasitaire :

	Nombre de parasites/ µL dans le sang	Microscopie	Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Sensibilité
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7 %
	101-200	15	15	100 %
	201-500	10	10	100 %
	500-1000	9	9	100 %
	>1000	7	7	100 %
	Total	53	52	98,1 %

	Nombre de parasites/ µL dans le sang	Microscopie	Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Sensibilité
Non <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4 %
	101-200	43	43	100 %
	201-500	37	37	100 %
	500-1000	28	28	100 %
	>1000	12	12	100 %
	Total	158	157	99,4 %

Sensibilité et spécificité cliniques

Méthode			Méthode de référence (microscopie)			
			Positif		Négatif	Total
			Pv	Pf		
Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Positif	Pan	157	0	0	157
		Pf	0	52	3	55
	Négatif		1	1	324	326
	Total		158	53	327	538

Remarque : L'étude comparative pour la ligne « Pan » a été réalisée exclusivement avec des échantillons de sang positifs à *P. vivax*.

Sensibilité relative : $(157+52)/(158+53)=99,1\%$ (96,6 %-99,7 %)

Spécificité relative : $324/327=99,1\%$ (97,3 %-99,7 %)

Concordance totale : $(157+52+324)/(158+53+327)=99,1\%$ (97,8 %-99,6 %)

*95 % Intervalle de confiance

Précision

La reproductibilité a été déterminée en testant des triplicats de 6 échantillons. La répétabilité a été déterminée dans le cadre de l'étude de reproductibilité. Les tests ont été réalisés sur 5 jours distincts, par 3 opérateurs, sur 3 sites, avec 3 lots de tests NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species indépendants.

Le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species a indiqué une répétabilité et reproductibilité admissible, lorsqu'il est effectué par des professionnels qualifiés. Les valeurs négatives et positives ont été correctement déterminées dans plus de 99 % des cas.

Substances interférentes

Les échantillons ont été mélangés avec les substances potentiellement interférentes suivantes et évalués avec le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Substances potentiellement interférentes	Concentration
Hémoglobine	2 g/L
Bilirubine (conjuguée)	342 µmol/L
Bilirubine (non conjuguée)	342 µmol/L
Triglycérides	37 mmol/L
Protéines (total)	120 g/L
Albumine	60 g/L
Gammaglobuline	60 g/L
Anticorps humains anti-souris (HAMA)	780,73 IU/mL
Facteur rhumatoïde	1035 IU/mL

Substances potentiellement interférentes	Concentration
Métronidazole	701 µmol/L
Quinine	148 µmol/L
Rifampicine	78,1 µmol/L
Aspirine	4,34 mmol/L
Paracétamol	199 µmol/L
Ibuprofène	2425 µmol/L
Caféine	308 µmol/L
Éthanol	86,8 mmol/L
Éthanol	86,8 mmol/L

Aucune de ces substances n'a interféré avec le test aux concentrations testées.

Réactivité croisée

Des échantillons cliniques ont été évalués pour leur réactivité croisée avec des infections non apparentées à l'aide du test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Infections non apparentées	Nombre d'échantillons
anti-HIV+	10
HBsAg+	20
anti-HCV+	10
anti-HAV+	20
anti-Rubella+	20
anti-CMV+	20
anti-HSV-1+	20
anti-HSV-2+	20
Typhus+	20
Fièvre jaune+	5
Dengue+	5
anti-Influenza A+	20
anti-Influenza B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Syphilis+	20
Tuberculose+	10

Aucune réactivité croisée avec les infections non apparentées citées ci-dessus n'a été observée lors des tests effectués avec le test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

14. Bibliographie

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Coake AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb; 60(2):173-2.

Rev. 0, 2023-11-13 EB

1. Uso previsto

El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y diferenciación simultáneas de HRP II (proteína rica en histidina II) específica para *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) y pLDH (plasmodium lactato deshidrogenasa) específica para las especies de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) en muestras humanas de sangre completa. Este test sirve para ayudar en el diagnóstico de una infección por malaria y solo está indicado para el uso profesional. Toda muestra que resulte reactiva con el test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species deberá confirmarse con una prueba complementaria, por ejemplo, el examen microscópico de un frotis de sangre de gota fina.

2. Introducción y significado clínico

La malaria es una enfermedad febril, hemolítica y transmitida por un mosquito. Infecta a más de 200 millones de personas y mata a más de 400.000 personas al año.¹ La malaria está causada por cuatro especies de *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*. Todos estos plasmodios infectan y destruyen a los eritrocitos humanos, provocando síntomas como escalofríos, fiebre, anemia y esplenomegalia. El *P. falciparum* causa una enfermedad más grave que las otras especies de *Plasmodium* y es responsable de la mayoría de las muertes relacionadas con la malaria. Los *P. falciparum* y *P. vivax* son los patógenos más comunes; sin embargo, existe una considerable variación geográfica en la distribución de las especies de *Plasmodium*.²

Tradicionalmente, la malaria se diagnostica mediante la detección de organismos en frotis de gota gruesa de sangre periférica teñido con Giemsa, y las diferentes especies de *Plasmodium* se diferencian por su presencia en los eritrocitos infectados.² La técnica proporciona un diagnóstico preciso y fiable, pero solo cuando la realizan microscopistas cualificados que utilizan protocolos definidos,³ lo que supone importantes obstáculos para las zonas más remotas y pobres del mundo.

El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species permite la detección cualitativa y diferenciación simultáneas, de HRP II específica de *P. falciparum* y/o de la pLDH producida por todas las especies de *Plasmodium*. El test utiliza conjugados de oro coloidal para detectar selectivamente HRP II y pLDH en muestras de sangre humana.

En 2010, investigadores que trabajaban en la región amazónica peruana identificaron pacientes infectados con cepas de *P. falciparum* que portaban delecciones de los genes HRP II y HRP III, lo que los hacía indetectables mediante test rápidos basados en HRP II. La frecuencia y la distribución global de este fenómeno aún no se comprenden completamente, pero se ha descubierto que, en un número limitado de países, la incidencia relativa de estos mutantes por delección es lo suficientemente alta como para cuestionar la utilidad de los test rápidos que detectan solo HRP II.

3. Principio del test

El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y diferenciación simultáneas de HRP II (proteína rica en histidina II) específico para *P. falciparum* y pLDH específica para las especies de *Plasmodium* (*P. falciparum*,

P. vivax, *P. malariae*, *P. ovale*) en muestras de sangre completa humana. La membrana se recubre previamente con anticuerpos anti-HRP II y anti-pLDH.

Durante el test, la muestra de sangre completa reacciona con los anticuerpos anti-HRP II y los conjugados de anticuerpos y colorantes anti-pLDH, que están recubiertos en la tira de test interna. A continuación, la mezcla migra a lo largo de la membrana por acción capilar y reacciona con los anticuerpos anti-HRP II en la región de la línea de test "Pf" y con los anticuerpos anti-pLDH en la región de la línea de test "Pan". Si la muestra contiene HRP II y/o pLDH, se formará una línea coloreada en la región de la línea de test "Pf" o de la línea de test "Pan", o bien se formará una línea coloreada tanto en la región de la línea de test "Pf" como en la región de la línea de test "Pan".

La ausencia de una línea coloreada en la región de la línea de test "Pf" y/o "Pan" indica que la muestra no contiene HRP II y/o pLDH.

La formación de una línea coloreada en la región de control (C) sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 25 casetes de test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species
- 25 pipetas desechables (10 µL)
- 1 búfer "Buffer" (7 mL)
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Cronómetro
- Recipiente para la recolección de muestras
- Lancetas (solo para sangre completa por punción digital)
- AlmoHADILLAS con alcohol
- Micropipeta (en caso necesario)

6. Almacenamiento y conservación

Los kits de test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species deben ser almacenados a 2-30°C y utilizados hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. Los casetes de test deben permanecer en su envase sellado hasta el momento de uso. No congele los dispositivos. No utilice los test después de la fecha de caducidad. Proteja los componentes del test de una posible contaminación. No utilice el test si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo suministrado, recipientes o reactivos puede producir resultados incorrectos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento antes de comenzar el test.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice el dispositivo de test si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada muestras en la zona de reacción (región de resultados).
- Evite tocar la zona de reacción (región de resultados) para evitar posibles contaminaciones.

- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente de recolección para cada muestra obtenida.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits de test.
- No coma, beba o fume en la zona donde manipule las muestras y los kits de test.
- Mientras manipule las muestras utilice ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la correcta eliminación de las muestras.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por ello, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

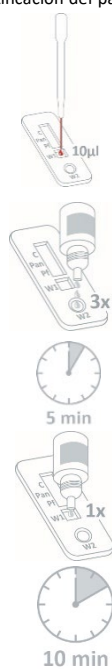
descongeladas y mezcladas bien antes de realizar el test. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado de las muestras.

Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones aplicables para el transporte de agentes etiológicos.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, el búfer y/o controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar el test.

1. Retire el casete de test de su envase de aluminio y utilícelo lo antes posible. Los mejores resultados se obtendrán si el test se realiza inmediatamente después de abrir el envase. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control.
2. Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y plana.
3. Manteniendo la pipeta en posición vertical, aspire la muestra hasta el primer ensanchamiento (aproximadamente 10 µL) y añádale al pocillo superior (W1) del casete de test, luego añada 3 gotas enteras de búfer al pocillo inferior (W2). Evite la formación de burbujas.
4. Active el cronómetro.
5. Transcurridos exactamente **5 minutos**, añada 1 gota entera de búfer en el pocillo superior (W1).
6. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) coloreada(s). Lea los resultados del test a los 10 minutos. No interprete los resultados después de más de 20 minutos.



8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species puede realizarse utilizando sangre completa (de punción venosa o digital).

Para recolectar muestras de sangre completa obtenidas por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua templada, o límpiela con una almohadilla con alcohol. Déjela secar.
- Realice un masaje en la mano sin tocar el lugar de la punción, frotándola en dirección a la punta del dedo medio o anular.
- Pinche la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
- Frote suavemente desde la muñeca hasta la palma de la mano, y después continúe hasta el dedo para producir una gota redonda de sangre en la zona de la punción.

Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar el test inmediatamente.

Muestras de sangre completa obtenidas por punción venosa

Los recipientes que contengan anticoagulantes, como EDTA, citrato de sodio, oxalato de potasio o heparina de sodio, deben utilizarse para la preparación de muestras de sangre completa venosa.

Realice el test inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados.

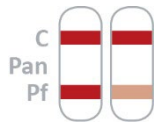
Si el test se va a realizar en los 3 días posteriores a la recolección de la muestra, almacene a 2-8°C la sangre completa obtenida por punción venosa. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe mantenerlas a -20°C.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar el test. Las muestras congeladas deben ser completamente

10. Interpretación del resultado

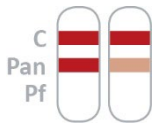
Positivo en infección por P. falciparum

Aparecen dos líneas coloreadas en la zona de resultados. Una en la región de control (C) y la otra en la región de test "Pf". El resultado del test indica la presencia de HRP II y, por tanto, una infección por *P. falciparum*.



Positivo por infección no relacionada con P. falciparum (P. vivax, P. malariae o P. ovale)*

Aparecen dos líneas coloreadas en la zona de resultados. Una en la región de control (C) y la otra en la región de test "Pan". El resultado del test indica la presencia de pLDH y, por tanto, una



infección por *P. vivax*, *P. malariae* o por *P. ovale*.

* en infecciones con mutantes por delección HRP II de *P. falciparum*, la línea en la región de la línea de test "Pf" no aparece. Por lo tanto, en regiones endémicas para mutantes por delección de HRP II, este tipo de resultado también podría indicar una infección con el mutante por delección de *P. falciparum* solo o una infección mixta. No es posible diferenciar entre tipos de infección.

Positivo por *P. falciparum*/infección por *Plasmodium* mixto

Aparecen dos líneas coloreadas en la zona de resultados. Una línea aparece en la región de control (C) y una línea coloreada en cada región de la línea de test "Pf" y "Pan". El resultado del test indica la presencia de HRP II y de pLDH y, por tanto, una única infección por *P. falciparum* o una infección por varias especies de *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. malariae* y/o *P. ovale*), incluyendo *P. falciparum*.



Nota: las muestras con resultados positivos se deben confirmar con métodos de test alternativos y considerando todos los hallazgos clínicos, antes de determinarse como positivo.

Negativo

Aparece una sola línea coloreada en la región de control (C). En la región de la línea de test "Pf" y "Pan" no aparece ninguna línea coloreada, lo que indica que no se han detectado antígenos de *Plasmodium*.



No válido

No aparece la línea de control (C). Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test deben ser descartados. Si esto sucede, revise el procedimiento y repita el test con un nuevo casete. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.



Nota:

La intensidad de color en la región de la línea de test puede variar en función de la concentración del analito presente en la muestra. Por eso, cualquier sombra de color en la región de la línea de test se debe considerar positiva. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito en la muestra.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete de test contiene un control interno del procedimiento:

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control externo para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species está indicado solo para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*. El test solo debe utilizarse para la detección cualitativa de antígenos de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* o *P. ovale* en muestras de sangre completa humana. Se trata de un test cualitativo, por lo que no detecta ni la cantidad ni el aumento de la concentración de parásitos de *Plasmodium*.
- Como se describe en la sección 10 "Interpretación de resultados", la infección con mutantes por delección HRP II de *P. falciparum* no se puede distinguir de la infección con mutantes distintos de la especie *P. falciparum*. Por lo tanto, en áreas donde estas mutaciones son endémicas, se deben realizar pruebas adicionales, especialmente si se requiere una diferenciación clara para decisiones relativas al tratamiento de pacientes.
- El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species solo indica la presencia de antígenos de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* o *P. ovale* en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de una infección por malaria.
- Al igual que con todos los test de diagnóstico, los resultados obtenidos se deben interpretar conjuntamente con otra información clínica de la que disponga el médico.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar test adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por malaria.

13. Características del rendimiento

Sensibilidad analítica

El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species para la detección de la infección por *P. falciparum* y la no infección por *P. falciparum* según el nivel de parásitos:

	Número de parásitos/μL de sangre	Microscopio	Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Sensibilidad
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
	Total	53	52	98,1%

	Número de parásitos/μL de sangre	Microscopio	Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Sensibilidad
No <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
	Total	158	157	99,4%

Sensibilidad y especificidad clínicas

Método			Método de referencia (microscopio)			
			Positivo		Negativo	Total
			Pv	Pf		
Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Positivo	Pan	157	0	0	157
		Pf	0	52	3	55
	Negativo		1	1	324	326
	Total		158	53	327	538

Nota: el estudio de comparación de la línea "Pan" se realizó con muestras de sangre positivas solo para *P. vivax*.

Sensibilidad relativa: $(157+52)/(158+53)=99,1\%$ (96,6%-99,7%)

Especificidad relativa: $324/327=99,1\%$ (97,3%-99,7%)

Concordancia general: $(157+52+324)/(158+53+327)=99,1\%$ (97,8%-99,6%)

*95% de intervalo de confianza

Precisión

Se estableció la reproducibilidad mediante el análisis por triplicado de 6 muestras. Se estableció la repetibilidad dentro del estudio de reproducibilidad. Los test fueron realizados por 3 operadores utilizando 3 lotes independientes de test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species en 3 diferentes lugares en 5 días distintos.

El test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species demostró una repetibilidad y reproducibilidad aceptables cuando fue realizada por profesionales capacitados. Los valores negativos y positivos se identificaron correctamente en >99% de los casos.

Sustancias interferentes

Las muestras se enriquecieron con las siguientes sustancias potencialmente interferentes y se evaluaron utilizando el test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Sustancias potencialmente interferentes	Concentración
Hemoglobina	2 g/L
Bilirrubina (conjugada)	342 μmol/L
Bilirrubina (no conjugada)	342 μmol/L
Triglicéridos	37 mmol/L
Proteína (total)	120 g/L
Albumina	60 g/L
γ-globulina	60 g/L
Anticuerpo anti-ratón humano (HAMA)	780,73 UI/mL
Factor reumatoide	1035 UI/mL
Metronidazol	701 μmol/L
Quinina	148 μmol/L

Sustancias potencialmente interferentes	Concentración
Rifampicina	78,1 μmol/L
Aspirina	4,34 mmol/L
Paracetamol	199 μmol/L
Ibuprofeno	2425 μmol/L
Cafeína	308 μmol/L
Etanol	86,8 mmol/L

Ninguna de estas sustancias interfirieron con el test a las concentraciones analizadas.

Reacciones cruzadas

Se evaluaron las muestras clínicas para detectar las reacciones cruzadas con infecciones no relacionadas utilizando el test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Infecciones no relacionadas	Nº de muestras
anti-VIH+	10
HBsAg+	20
anti-VHC+	10
anti-VHA+	20
anti-Rubeola+	20
anti-CMV+	20
anti-VHS-1+	20
anti-VHS-2+	20
Fiebre tifoidea+	20
Fiebre amarilla+	5
Fiebre de dengue+	5
anti-Influenza A+	20
anti-Influenza B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Sífilis+	20
Tuberculosis+	10

No se observaron reacciones cruzadas con las infecciones no relacionadas antes mencionadas cuando se analizó con el test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

14. Referencias

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al. Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2.

Rev. 0, 2023-11-13 GP

1. Uso previsto

Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species è un immunodosaggio cromatografico per la rilevazione simultanea qualitativa e differenziazione del HRP II (proteina II ricca di istidina) specifica per *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) e pLDH (plasmodium lattato deidrogenasi) specifica per le specie *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) nei campioni di sangue intero umano. Il test è concepito come uso di supporto nella diagnosi di un'infezione di malaria ed è concepito solo per uso professionale. Qualsiasi campione che risulti reattivo con il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species deve essere confermato con un esame supplementare, per es. l'esame microscopico di una di una sottile striscia di sangue.

2. Introduzione e significato clinico

La malaria è una malattia febbrile, emolitica, trasmessa dalle zanzare. Infetta oltre 200 milioni di persone e ne uccide più di 400.000 ogni anno.¹ La malaria è causata da quattro specie di *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. Questi plasmodi contaminano e distruggono gli eritrociti umani causando brividi, febbre, anemia e splenomegalia. Il *P. falciparum* causa le malattie più gravi rispetto alle altre specie di *Plasmodium* e conta con le maggiori morti relazionate con la malaria. *P. falciparum* e *P. vivax* sono i patogeni più comuni; c'è in ogni caso, una considerevole variazione geografica nella distribuzione della specie *Plasmodium*.²

Generalmente l'infezione malarica viene diagnosticata attraverso l'individuazione degli organismi patogeni analizzando strisce di sangue periferico (colorazione di Giemsa). Le differenti specie di *Plasmodium* si distinguono attraverso la loro comparsa in eritrociti contaminati.² Questa tecnica è in grado di produrre una diagnosi accurata ed affidabile ma solo se eseguita da tecnici esperti ed utilizzando protocolli definiti³, il che rappresenta un ostacolo per le aree più remote e povere del mondo.

Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species permette la rilevazione simultanea, qualitativa e la differenziazione di HRP II specifici a *P. falciparum* e/o pLDH prodotti da tutte le specie *Plasmodium*. Il test utilizza coniugati oro colloidal per rilevare selettivamente HRP II e pLDH in sangue umano intero.

Nel 2010, ricercatori che lavoravano nell'Amazzonia peruviana identificarono pazienti infetti da ceppi di *P. falciparum* portatori di delezioni dei geni HRP II e HRP III, che li rendevano non rilevabili dai test rapidi basati su HRP II. La frequenza e la distribuzione globale di questo fenomeno non sono ancora del tutto chiare, ma in un numero limitato di paesi l'incidenza relativa di questi mutanti di delezione è risultata sufficientemente elevata da mettere in dubbio l'utilità dei test rapidi che rilevano solo l'HRP II.

3. Principio del test

Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species è un immunodosaggio cromatografico per la rilevazione simultanea qualitativa e differenziazione del HRP II (proteina II ricca di istidina) specifica per *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) e pLDH (plasmodium lattato deidrogenasi) specifica per le specie *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) nei

campioni di sangue intero umano. La membrana è prevestita con anticorpi anti-HRP II e anticorpi anti-pLDH.

Durante i test, il campione di sangue intero reagisce con gli anticorpi anti-HRP II e i coniugati di anticorpi anti-pLDH, che sono pre-vestiti sulla striscia reattiva interna. Il composto migra lungo la membrana per azione capillare e reagisce con gli anticorpi anti-HRP II nella regione della linea del test 'Pf' e con anticorpi anti-pLDH antibodies nella regione della linea di test 'Pan'. Se il campione contiene HRP II e/o pLDH, una linea si formerà nella regione della linea del test 'Pf' oppure 'Pan', oppure una linea colorata si formerà in entrambe la linea della regione di test 'Pf' e la regione della linea del test 'Pan'.

L'assenza di una linea colorata nella regione della linea del test 'Pf' e/o 'Pan' indica che il campione non contiene HRP II e/o pLDH.

La presenza di una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) funge da controllo procedurale interno indicando che è stato utilizzato il corretto volume di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e materiali forniti

- 25 test a cassetta NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species
- 25 pipette monouso (10 µL)
- 1 soluzione "Buffer" (7 mL)
- 1 istruzioni per l'uso

5. Altri materiali richiesti

- Timer
- Contenitore per la raccolta del campione
- Lancette (solo per il prelievo di sangue intero mediante puntura del polpastrello)
- Dischetti alcol
- Micropipette (se necessarie)

6. Conservazione & stabilità

I kit di test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species dovrebbero essere mantenuti a 2-30°C e usati entro la data di scadenza indicata sulla confezione. I test a cassetta vanno conservati nella loro confezione fino al loro utilizzo. Non congelare i test. Non utilizzare i test oltre la data di scadenza. Prevenire episodi di contaminazione dei kit di test. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all'ottenimento di falsi risultati.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non riutilizzare i test.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Al fine di evitare la contaminazione non toccare l'area di risultato (result area).

- Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando sempre un contenitore per la raccolta del campione nuovo.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- Umidità o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species può essere eseguito usando sangue intero (da venipuntura o puntura del polpastrello).

Campioni di sangue intero tramite puntura del polpastrello:

- Lavare la mano del paziente con sapone ed acqua calda o pulire con alcol la zona da incidere. Fare asciugare.
- Massaggiare la mano del paziente senza toccare la zona del prelievo sfregando la mano verso il basso in direzione del dito medio o dell'anulare.
- Incidere la pelle utilizzando un bisturi sterile. Asciugare la prima goccia di sangue.
- Sfregare leggermente la mano del paziente dal polso al palmo fino al dito inciso affinché si formi una nuova goccia di sangue.

I campioni raccolti attraverso puntura del polpastrello andrebbero testati immediatamente.

Campioni di sangue intero tramite prelievo venoso

I contenitori con anticoagulanti, come EDTA, citrato di sodio ossalato di potassio o eparina di sodio dovrebbero essere utilizzati per la preparazione di campioni.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo.

Se il test viene eseguito entro 3 giorni dalla raccolta del campione, il sangue intero raccolto tramite prelievo venoso va conservato a 2-8°C. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.

Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test.

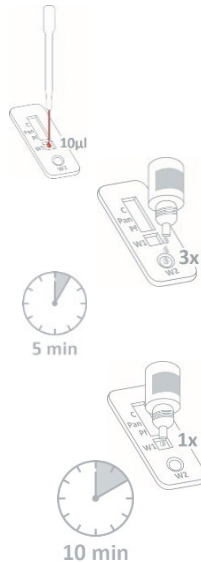
Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

Qualora i campioni dovessero essere spediti, dovrebbero essere imballati in conformità con tutte le normative applicabili per il trasporto di agenti eziologici.

9. Procedura del Test

Portare i test, i campioni, soluzioni e/o controlli a temperatura ambiente (15-30°) prima di eseguire il test.

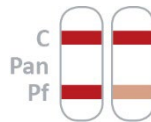
1. Rimuovere il test a cassetta dalla confezione di alluminio e usarlo il prima possibile. Si otterranno i risultati migliori se il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura della confezione. Etichettare il test a cassetta con l'identificativo del paziente o controllo.
2. Posizionare il test a cassetta su una superficie piana e pulita.
3. Tenere la pipetta verticalmente, aspirare il campione fino al primo allungamento (circa 10 µL) e aggiungerlo al pozzetto superiore (W1) della cassetta del test, quindi aggiungere 3 gocce intere di tampone al pozzetto inferiore (W2). Evitare la formazione di bolle d'aria.
4. Avviare il timer.
5. Dopo esattamente **5 minuti**, aggiungere una goccia intera di soluzione al pozzetto superiore (W1).
6. Attendere la comparsa della linea o linee colorate. Leggere il risultato del test entro 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 20 minuti.



10. Interpretazione dei risultati

Positivo all'infezione *P. falciparum*

Compaiono due linee colorate nell'area di risultato. Una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test "Pf". Il risultato del test indica la presenza di HRP II e quindi, un'infezione *P. falciparum*.



Positivo a un'infezione non-*P. falciparum* (*P. vivax*, *P. malariae* o *P. ovale*)*

Compaiono due linee nell'area di risultato. Una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test "Pan". Il risultato del test indica la presenza di pLDH e quindi un'infezione *P. vivax*, *P. malariae* o di *P. ovale*.



* nelle infezioni con mutanti di delezione *P. falciparum* HRP II la linea nella regione di test 'Pf' non appare. Quindi, nelle regioni endemiche per mutanti di delezione HRP II, questo

tipo di risultato può indicare anche un'infezione con delezione mutante da sola o una infezione mista. Una differenziazione tra tipi di infezione non è possibile.

Positivo all'infezione *P. falciparum*/mista *Plasmodium*

Compiono due linee nella finestra di risultato. Una linea compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) e una linea compare in ciascuna regione della linea del test 'Pf' e 'Pan'. Il risultato del test indica la presenza di entrambe HRP II e pLDH, e quindi, sia una singola infezione con *P. falciparum* o un'infezione con diverse specie *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. malariae* e /o *P. ovale*), inclusa *P. falciparum*.



Nota bene: Campioni che mostrano un risultato positivo andrebbero confrontati con altri metodi di analisi ed indagini cliniche prima di emettere una diagnosi positiva.

Negativo

Si sviluppa solo una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Nessuna linea colorata appare nella regione della linea del test 'Pf' e 'Pan', che indica che nessun antigene *Plasmodium* è stato individuato.



Non valido

La linea di controllo (C) non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato aggiunto il giusto volume di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente e che sono state applicate le corrette tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio* (GLP) raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test.

12. Limiti del test

• Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species è esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*. Il test dovrebbe essere utilizzato solo per la rilevazione qualitativa

di *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* o antigeni *P. ovale* in campioni di sangue umano intero. Con questo test qualitativo, non è possibile determinare né il valore quantitativo né la velocità di aumento della concentrazione degli parassiti *Plasmodium*.

- Come descritto nella sezione 10 'Interpretazione dei risultati', l'infezione con *P. falciparum* HRP II mutanti di cancellazione non può essere distinta dall'infezione con non-*P. falciparum* species. Pertanto, nelle aree in cui tali mutanti sono endemici, è necessario effettuare ulteriori test, soprattutto se è necessaria una chiara differenziazione per le decisioni sulla gestione dei pazienti.
- Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species indica solamente la presenza di *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* o antigeni *P. ovale* nei campioni e dovrebbe essere utilizzato come unico criterio per la diagnosi dell'infezione malarica.
- Come per tutti i test diagnostici, tutti i risultati ottenuti andrebbero interpretati in congiunzione con altre informazioni cliniche reperibili dal medico.
- Se il risultato del test è negativo ma i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire altri test utilizzando altri metodi clinici di analisi. Un risultato negativo non preclude la possibilità di un'infezione di malaria.

13. Caratteristiche Tecniche

Sensibilità analitica

Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species per la rilevazione di infezioni da *P. falciparum* e infezioni da non-*P. falciparum* secondo il livello di parassiti:

	No. di parassiti/ µL di sangue	Microscopio	Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Sensibilità
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
	Totale	53	52	98,1%
Non- <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
	Totale	158	157	99,4%

Sensibilità e Specificità diagnostica:

Metodo	Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Metodo di riferimento (microscopio)			
		Positivo		Negativo	Totale
		Pv	Pf		
Positivo	Pan	157	0	0	157
	Pf	0	52	3	55
Negativo		1	1	324	326
Totale		158	53	327	538

Nota bene: Lo studio comparativo per la linea 'Pan' è stato eseguito utilizzando campioni positivi solo per *P vivax*.

Sensibilità Relativa: $(157+52)/(158+53)=99,1\%$ (96,6%-99,7%)

Specificità Relativa: $324/327=99,1\%$ (97,3%-99,7%)

Andamento complessivo: $(157+52+324)/(158+53+327)=99,1\%$ (97,8%-99,6%)

*95% Accuratezza

Precisione

La riproducibilità è stata stabilita testando triplicati di 6 campioni. La ripetibilità è stata stabilita nell'ambito dello studio di riproducibilità. I test sono stati eseguiti da 3 operatori, utilizzando 3 lotti di test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species indipendenti in 3 sedi di test in 5 giorni diversi.

Il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species dimostrato una ripetibilità e riproducibilità accettabili quando eseguito da professionisti esperti. I valori negativi e positivi sono stati identificati correttamente in più del 99% dei casi (>99%).

Sostanze interferenti

I campioni sono stati arricchiti con le seguenti sostanze potenzialmente interferenti e valutati utilizzando il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Sostanze potenzialmente interferenti	Concentrazione
Emoglobina	2 g/L
Bilirubina (coniugata)	342 µmol/L
Bilirubina (non coniugata)	342 µmol/L
Trigliceridi	37 mmol/L
Proteina (totale)	120 g/L
Albumina	60 g/L
globulina γ	60 g/L
Anticorpo umano anti-topo (HAMA)	780,73 IU/mL
Fattore reumatoide	1035 IU/mL
Metronidazolo	701 µmol/L
Quinina	148 µmol/L
Rifampicina	78,1 µmol/L
Aspirina	4,34 mmol/l
Paracetamolo	199 µmol/L
Ibuprofene	2425 µmol/L
Caffeina	308 µmol/L
Etanolo	86,8 mmol/L

Nessuna delle sostanze ha interferito con il test alle concentrazioni testate.

Reattività incrociata

I campioni clinici sono stati valutati per la reattività incrociata con infezioni non correlate utilizzando il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Infezioni non correlate	N° di campioni
anti-HIV+	10
HBsAg+	20
anti-HCV+	10
anti-HAV+	20
anti-Rosolia+	20
anti-CMV+	20
anti-HSV-1+	20
anti-HSV-2+	20

Infezioni non correlate	N° di campioni
Febbre Tifoide+	20
Febbre gialla +	5
Dengue febbre+	5
anti-Influenza A+	20
anti-Influenza B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Sifilide+	20
Tubercolosi+	10

Non è stata osservata alcuna reattività incrociata con le suddette infezioni non correlate quando analizzate utilizzando il test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

14. Bibliografia

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2.

Rev. 0, 2023-11-13 CDL

1. Zastosowanie

Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species jest immunochromatograficznym testem typu Lateral Flow do jednoczesnego oznaczania i rozróżniania HRP II (bogatego w histydynę białka II), specyficznego dla *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) oraz pLDH (Plasmodium dehydrogenazy mleczanowej), specyficznego dla gatunku *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) w ludzkich próbkach krwi. Test służy jako środek pomocniczy przy diagnozie infekcji malarią i przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego użytku. Wszystkie próbki reagujące na test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species należy badać dodatkowym testem, np. można potwierdzić przez badanie mikroskopowe cienkiego rozmazu krwi.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Malaria to hemolityczna, gorączkowa choroba przenoszona przez komary. Co roku ponad 200 milionów ludzi zaraża się malarią, a ponad 400 000 osób umiera z powodu tej choroby.¹ Malarię wywołują cztery gatunki *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* i *P. malariae*. Wszystkie te plasmodia infekują i niszczą ludzkie erytrocyty oraz powodują objawy takie jak gorączka, dreszcze, anemia i powiększenie śledziony. *P. falciparum* wywołuje poważniejsze zachorowanie niż inne rodzaje plasmodiów i odpowiedzialne jest za większość śmiertelnych przypadków malarii. *P. falciparum* und *P. vivax* są najczęstszymi patogenami, jednak istnieje znaczne różnicowanie geograficzne w rozmieszczeniu rodzajów plasmodiów.²

Tradycyjnie malarię rozpoznaje się poprzez wykrycie organizmów w rozmazach krwi obwodowej barwionych metodą Giemsy, ponieważ różne gatunki plasmodia są wyróżniane przez ich obecność w zakażonych erytrocytach.²

Technika ta umożliwiła dokładną i niezawodną diagnozę, ale wyłącznie wtedy, gdy przeprowadzana jest przez wykwalifikowanych diagnostów za pomocą mikroskopu, którzy przestrzegają ustalonych procedur³, co stanowi dużą przeszkodę w odległych i ubogich rejonach świata.

Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species umożliwiła jednoczesne jakościowe wykrywanie i różnicowanie HRP II swoistej dla *P. falciparum* i/lub pLDH wytwarzanej przez wszystkie gatunki *Plasmodium*. Test wykorzystuje koniugaty złota koloidalnego do selektywnego wykrywania HRP II i pLDH w próbkach ludzkiej krwi pełnej.

W 2010 roku naukowcy z obszaru peruwiańskiej Amazonii zidentyfikowali pacjentów zakażonych szczepami *P. falciparum*, gdzie szczepy te posiadały delecje w genach HRP II i HRP III, co czyniło je niewykrywalnymi za pomocą szybkich testów opartych na HRP II. Częstotliwość i globalna dystrybucja tego zjawiska nie jest jeszcze w pełni zrozumiała, ale w niewielkiej liczbie krajów względna częstotliwość tych mutacji delecyjnych jest wystarczająco wysoka, aby zakwestionować użyteczność szybkich testów, które wykrywają tylko HRP II.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 jest chromatograficznym testem immunologicznym z przepływem bocznym do jednoczesnego jakościowego wykrywania i różnicowania HRP II, swoistego dla *P. falciparum* i pLDH, swoistego dla gatunku

Plasmodium (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) w próbkach ludzkiej krwi pełnej. Membrana jest wstępnie pokryta przeciwciałami anti-HRP II i anti-pLDH.

Podczas badania próbka krwi pełnej reaguje z barwnymi koniugatami przeciwciał anti-HRP II i anti-pLDH wstępnie pokrytymi na wewnętrznym pasu testowym. Następnie mieszanina migruje wzdłuż membrany pod wpływem siły kapilarnej i reaguje z przeciwciałami anti-HRP II w obszarze linii testowej „Pf” oraz z przeciwciałami anti-pLDH w obszarze linii testowej „Pan”. Jeśli w próbce obecne są HRP II i/lub pLDH, w obszarze linii testowej „Pf” lub „Pan” pojawia się kolorowa linia lub kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej „Pf” i „Pan”.

Brak kolorowej linii w obszarze linii testowej „Pf” i/lub „Pan” wskazuje, że próbka nie zawiera HRP II i/lub pLDH.

Pojawienie się kolorowej linii w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola procesowa i wskazuje na to, że dostarczona została wystarczająca ilość próbki, a membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 25 testów kasetowych NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species
- 25 pipet jednorazowych (10 µl)
- 1 bufor „Buffer” (7 ml)
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper
- Pojemniki na próbkę
- Nakłuwacze (tylko dla próbek z krwi pełnej z nakłucia palca)
- Waciki alkoholowe
- Ewentualnie mikropipeta

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species powinny być przechowywane w temperaturze 2-30°C i stosowane do daty użyteczności podanej na opakowaniu. Kasety testowe powinny pozostać w zamkniętym opakowaniu foliowym do momentu przeprowadzenia badania. Nie zamrażać zestawów testowych. Testów nie używać po upływie daty ważności. Test i komponenty testu należy chronić przed kontaminacją. Testu nie należy używać przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub próbek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej próbki dla każdej próbki.

- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektywy dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności, np. unikać połknięcia lub wdychania).
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species można wykonać z krwi pełnej (pobranej z żyły lub nakłucia palca).

Pobieranie krwi pełnej z nakłucia palca

- Umyć dłoń pacjenta przy pomocy mydła i ciepłej wody a następnie, przemyć wacikiem nasączonym alkoholem. Pozostawić do osuszenia.
- Masować dłoń, nie dotykając przy tym miejsca nakłucia, pocierając dłoń w kierunku opuszka palca środkowego lub serdecznego.
- Nakłuć skórę przy pomocy sterylnego nakłuwacza. Wytrząść pierwszą kroplę krwi.
- Pocierać ostrożnie dłoń od nadgarstka do powierzchni dłoni i do palca, tak aby w punkcie nakłucia wytworzyła się okrągła kropla.

Próbki krwi pełnej z palca powinny być przebadane bezpośrednio.

Próbki krwi pełnej z nakłucia żyły

Do przygotowania próbek pełnej krwi żyłnej należy użyć pojemników do pobierania próbek z antykoagulantami, np. EDTA, cytrynianu sodu, szczawianu potasu lub heparyny sodowej.

Przeprowadzenie testu powinno nastąpić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy okres czasu.

Pełną krew żylną należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, jeśli test zostanie wykonany w ciągu 3 dni od pobrania próbki. W przypadku dłuższego przechowywania, próbki należy przechowywać w temperaturze -20°C.

Przed przeprowadzeniem testu, należy doprowadzić próbki do temperatury pokojowej. Zamrożone próbki powinny zostać całkowicie rozmrożone i dobrze wymieszane, przed

rozpoczęciem testu. Probki nie mogą być ponownie zamrażane i rozmrażane.

Jeśli próbki mają zostać wysłane, to powinny być przygotowane do wysłania zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi transportu patogenów etiologicznych.

9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem testu, doprowadzić wszystkie testy, próbki i/albo kontrole do temperatury pokojowej (15-30°C).

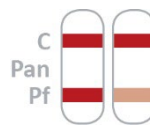
1. Wyciągnąć kasetę testową z zamkniętego opakowania foliowego i przeprowadzić test tak szybko, jak jest to tylko możliwe. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu. Oznaczyć kasetę testową danymi pacjenta lub identyfikacją kontrolną.
2. Kasetę testową położyć na czystą i równą powierzchnię.
3. Trzymając pipetę pionowo dodać próbkę do pierwszego okienka (ok. 10 µL) w górnej części (W1) kasety testowej. Następnie dodać 3 pełne krople buforu do drugiego okienka (W2). Unikać wytwarzania się pęcherzyków powietrza.
4. Włączyć stoper.
5. Dokładnie po 5 minutach dodać 1 pełną kroplę buforu do górnego zagłębienia (W1).
6. Poczekać na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik interpretować po upływie kolejnych 10 minut. Po upływie więcej jak 20 minut nie interpretować wyniku.



10. Interpretacja wyników

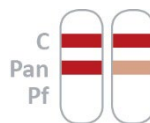
Pozytywny dla zakażenia *P. falciparum*

W polu wyników pojawią się dwie kolorowe linie. Jedna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej "Pf". Wynik testu wskazuje na obecność HRP II, a tym samym na zakażenie *P. falciparum*.



Pozytywny dla zakażenia nie-*P. falciparum* (*P. vivax*, *P. malariae* lub *P. ovale*)*

W polu wyniku pojawią się dwie kolorowe linie. Jedna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej "Pan". Wynik testu wskazuje na obecność pLDH, a tym samym na



zakażenie *P. vivax*, *P. malariae* lub *P. ovale*.

* W zakażeniach *P. falciparum* z mutacją delecyjną HRP II linia nie pojawia się w regionie linii testowej "Pf". Dlatego w regionach, w których mutacje delecyjne HRP II są endemiczne, taki wynik może również wskazywać na infekcję samym mutantem delecyjnym *P. falciparum* lub infekcję mieszaną. W tym przypadku nie jest możliwe rozróżnienie typów infekcji.

Pozytywny dla *P. falciparum*/ mieszane zakażenia *Plasmodium*

W polu wyniku pojawiają się trzy kolorowe linie. Jedna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C) i odpowiednio jedna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowych "Pf" i "Pan". Wynik testu wskazuje na obecność HRP II i pLDH, a tym samym na pojedynczą infekcję *P. falciparum* lub kilkoma gatunkami *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. malariae* i/lub *P. ovale*), w tym *P. falciparum*.



Wskazówka: próbki z pozytywnymi wynikami należy potwierdzić alternatywną metodą badania jak również przez wyniki kliniczne, zanim wynik zostanie definitywnie określony jako pozytywny.

Negatywny

Tylko w obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się kolorowa linia. W obszarach linii testowej „Pf” i „Pan” nie pojawia się żadna kolorowa linia, co wskazuje, że nie wykryto antygenów *Plasmodium*.



Nieważny

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone. Należy sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.



Wskazówka:

Intensywność kolorów w obszarze linii testowych może różnić się, w zależności od stężenia analizatów, które zawarte są w próbce. Dlatego każdy odcień w obszarze linii testowej powinien być traktowany jako pozytywny wynik. Należy mieć na uwadze, że jest to test jakościowy i nie można nim określać stężenia analizatów w próbce.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniej przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę procesową: pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona

dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*. Testu należy używać wyłącznie do jakościowego wykrywania *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* lub *P. ovale* w próbkach ludzkiej krwi pełnej. Za pomocą tego testu jakościowego nie można określić ani wartości ilościowej, ani tempa wzrostu stężenia pasożytów *Plasmodium*.
- Jak opisano w punkcie 10 "Interpretacja wyników", zakażenia mutantami delecyjnymi *P. falciparum* HRP II nie można odróżnić od zakażenia gatunkami innymi niż *P. falciparum*. Dlatego w regionach, w których takie mutanty są endemiczne, należy przeprowadzić dodatkowe testy, zwłaszcza jeśli do podjęcia decyzji o leczeniu pacjenta wymagane jest jednoznaczne rozróżnienie tych gatunków.
- Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species wykrywa jedynie obecność antygenów *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* lub *P. ovale* w próbce i nie powinien być używany jako pojedyncze kryterium rozpoznania zakażenia malarią.
- Podobnie jak w przypadku wszystkich badań diagnostycznych, wszystkie wyniki muszą być interpretowane w połączeniu z dalszymi klinicznymi informacjami, które dostępne są lekarzowi.
- Jeśli wynik testu jest negatywny a objawy kliniczne utrzymują się, zaleca się dalsze badania przy użyciu innych metod klinicznych. Ujemny wynik nie wyklucza możliwego zakażenia malarią w jakimkolwiek momencie.

13. Charakterystyka testu

Czułość analityczna

Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species do wykrywania *P. falciparum* i innych infekcji niż *P. falciparum* w zależności od stężenia pasożytów:

	Liczba pasożytów/ µL we krwi	Mikroskopia	Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Czułość
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
	Suma	53	52	98,1%
nie- <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
	Suma	158	157	99,4%

Czułość i swoistość diagnostyczna

Metoda			Metoda referencyjna (Mikroskopia)			
			Pozytywny		Negatywny	Suma
			Pv	Pf		
Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Pozytywny	Pan	157	0	0	157
		Pf	0	52	3	55
	Negatywny		1	1	324	326
	Suma		158	53	327	538

Wskazówka: Badanie porównawcze dla linii „Pan” przeprowadzono wyłącznie z próbkami krwi z dodatnim wynikiem testu *P. vivax*.

Relatywna czułość: $(157+52)/(158+53) = 99,1\%$ (96,6%-99,7%)

Relatywna swoistość: $324/327 = 99,1\%$ (97,3%-99,7%)

Ogólna zgodność: $(157+52+324)/(158+53+327) = 99,1\%$ (97,8%-99,6%)

*95% przedział ufności

Precyzyjność

Odtwarzalność określono przez testowanie trzech powtórzeń 6 próbek. Powtarzalność została określona w ramach badania odtwarzalności. Test został przeprowadzony przez 5 różnych dni przez 3 operatorów w 3 różnych lokalizacjach przy użyciu 3 niezależnych partii testu NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species. Test NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species wykazał akceptowalną powtarzalność i odtwarzalność, gdy był wykonywany przez przeszkolony personel. Wartości ujemne i dodatnie zostały poprawnie zidentyfikowane w > 99% przypadków.

Substancje interferujące

Próbki zostały wzbogacone następującymi potencjalnie zakłócającymi substancjami i ocenione za pomocą testu NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Potencjalnie zakłócające substancje	Stężenie
Hemoglobina	2 g/L
Bilirubina (skoniugowana)	342 µmol/L
Bilirubina (nie skoniugowana)	342 µmol/L
Triglicerydy	37 mmol/L
Proteiny (suma)	120 g/L
Albumina	60 g/L
Globulina y	60 g/L
anty-przeciwciała (HAMA)	780,73 IU/mL
Czynnik reumatoidalny	1035 IU/mL
Metronidazol	701 µmol/L
Chinina	148 µmol/L
Ryfampicyna	78,1 µmol/L
Aspiryna	4,34 mmol/L
Paracetamol	199 µmol/L
Ibuprofen	2425 µmol/L
Kofeina	308 µmol/L
Etanol	86,8 mmol/L
Etanol	86,8 mmol/L

Żadna z wyżej wymienionych substancji nie wchodziła w reakcję krzyżową z testem.

Reakcje krzyżowe

Próbki kliniczne oceniano pod kątem reaktywności krzyżowej z niepowiązanymi infekcjami przy użyciu testu NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Niepowiązane infekcje	Ilość próbek
anty-HIV+	10
HbsAg+	20
anty-HCV+	10
anty-HAV+	20
anty-Różyczka+	20
anty-CMV+	20
anty-HSV-1+	20
anty-HSV-2+	20
Tyfus+	20
Żółta gorączka+	5
Gorączka Denga+	5
anty-Grypa A+	20
anty-Grypa B+	10
anty Toxoplasma gondii+	10
Syfilis+	20
Gruźlica+	10

Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej z powyższymi niepowiązanymi infekcjami podczas testowania za pomocą testu NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

14. Bibliografia

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb; 60(2):173-2.

Rev. 0, 2023-11-13 AM

1. Uso previsto

O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species é um imunoenensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção simultânea qualitativa e diferenciação de HRP II (proteína rica em histidina II) específica de *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) e pLDH (plasmodium lactato desidrogenase) específico de espécies de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) em amostras de sangue total humano. O teste foi concebido para auxiliar no diagnóstico de infecção por Malária e é apenas para utilização profissional. Qualquer amostra considerada reactiva com o teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species deve ser confirmada com um ensaio suplementar, p.e. em exame microscópico de um esfregaço fino de sangue.

2. Introdução e significado clínico

A malária é uma doença hemolítica, febril e transmitida por mosquitos. Esta infecta mais de 200 milhões de pessoas e mata mais de 400 000 pessoas anualmente.¹ A malária é causada por quatro espécies de *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. Todos estes plasmodia infectam e destroem eritrócitos humanos, causando sintomas como calafrios, febre, anemia e esplenomegalia. *P. falciparum* causa a doença mais grave comparando com as outras espécies de *Plasmodium* e é a responsável pela maioria das mortes por malária. *P. falciparum* e *P. vivax* são os patógenos mais comuns; no entanto, existe uma variação geográfica considerável na distribuição da espécie do *Plasmodium*.²

Tradicionalmente, a malária é diagnosticada pela detecção de organismos em esfregaços espessos de sangue periférico coloridos pelo corante de Giemsa, e as diferentes espécies de *Plasmodium* são distinguidas pela sua presença em eritrócitos infectados.² A técnica fornece um diagnóstico preciso e fiável, mas apenas quando realizada por microscopistas qualificados usando protocolos definidos,³ o que apresenta grandes obstáculos para áreas remotas e pobres do mundo.

O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species permite a detecção simultânea qualitativa e diferenciação da HRP II específica para *P. falciparum* e/ou para pLDH produzido por todas as espécies de *Plasmodium*. O teste utiliza conjugados de ouro coloidal para detectar selectivamente a HRP II e o pLDH em amostras de sangue total humano.

Em 2010, investigadores que trabalhavam na região da Amazônia Peruana identificaram doentes infetados com estirpes de *P. falciparum* que apresentavam deleções dos genes HRP II e HRP III, tornando-as indetetáveis através de testes rápidos baseados em HRP II. A frequência e a distribuição global deste fenómeno ainda não são totalmente conhecidas, mas num número limitado de países, a incidência relativa destes mutantes de deleção foi considerada suficientemente elevada para questionar a utilidade dos testes rápidos que detetam apenas a HRP II.

3. Princípio do teste

O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species é um imunoenensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção simultânea qualitativa e diferenciação de HRP II específica para *P. falciparum* e pLDH específico para espécies de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) em

amostras de sangue total humano. A membrana é pré-revestida com anticorpos anti-HRP II e anticorpos anti-pLDH.

Durante o teste, a amostra de sangue total reage com os anticorpos anti-HRP II e conjugados de anticorpos-corante anti-pLDH, que são pré-revestidos na tira de teste interna. Então, a mistura migra ao longo da membrana por acção capilar e reage com anticorpos anti-HRP II na região da linha de teste 'Pf' e com anticorpos anti-pLDH na região da linha de teste 'Pan'. Se a amostra contiver HRP II ou/e pLDH, uma linha colorida será formada na região da linha de teste 'Pf' ou 'Pan', ou uma linha colorida será formada em ambas as regiões da linha de teste 'Pf' e da linha de teste 'Pan'.

A ausência de uma linha colorida na região da linha de teste 'Pf' e/ou 'Pan' indica que a amostra não contém HRP II e/ou pLDH.

A formação de uma linha colorida na região da linha de controlo (C) serve como controlo de procedimento, indicando que o volume apropriado de amostra foi adicionado e que ocorreu absorção da membrana.

4. Reagentes e materiais fornecidos

- 25 testes cassete NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species
- 25 pipetas descartáveis (10 µL)
- 1 solução tampão "Buffer" (7 mL)
- 1 manual de utilização

5. Materiais adicionais necessários

- Cronómetro
- Recipiente de recolha da amostra
- Lancetas (apenas para sangue total por punção no dedo)
- Compressas de algodão
- Micropipeta (se necessário)

6. Armazenamento e estabilidade

Os kits de teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species devem ser armazenados entre 2-30°C e usados até à data de validade indicada na embalagem. Os testes cassete devem permanecer selados nas embalagens até serem utilizados. Não congelar os kits de teste. Não utilizar testes após o prazo de validade. Os componentes do kit de teste devem ser cuidadosamente protegidos de contaminação. Não utilizar o teste se existir evidência de contaminação microbiana ou humidade. Contaminação biológica de equipamentos de distribuição, recipientes ou dos reagentes pode conduzir a resultados falsos.

7. Avisos e precauções

- Apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Ler atentamente o procedimento de teste antes de realizar o teste.
- Não utilizar o teste após expirada a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar o teste caso a embalagem se encontre danificada.
- Não reutilizar os testes.
- Não adicionar amostras à área de reacção (área de resultados).
- De modo a evitar uma contaminação, não tocar na área de reacção (área de resultados).

- Evitar contaminação cruzada de amostras utilizando um novo recipiente de recolha de amostra para cada amostra obtida.
- Não substituir ou misturar componentes de kits de teste diferentes.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento de amostras e kits de testes.
- Utilizar vestuário de protecção como batas, luvas descartáveis e protecção ocular durante o manuseamento das amostras.
- Manusear todas as amostras como potenciais agentes infecciosos. Observar as regulamentações estabelecidas respeitantes a riscos microbiológicos durante todos os procedimentos, e respeitar as directrizes padrão para a eliminação apropriada das amostras.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O certificado de origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendado que todos estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (p.e., não ingerir ou inalar).
- Humidade e temperatura podem afectar negativamente os resultados do teste.
- Materiais de teste já utilizados devem ser eliminados de acordo com as regulamentações locais.

8. Recolha e preparação de amostras

O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species pode ser realizado usando sangue total (por punção venosa ou punção no dedo).

Para a recolha de amostras de sangue total por punção no dedo:

- Lavar a mão do paciente com sabão e água morna ou limpar com um algodão embebido em álcool. Deixar secar.
- Massajar a mão sem tocar no local da punção, esfregando a mão em direcção à ponta do dedo médio ou anelar.
- Perfurar a pele com uma lanceta estéril. Limpar a primeira gota de sangue.
- Esfregar suavemente do pulso para a palma da mão e, em seguida, para o dedo para formar uma gota de sangue arredondada no local da punção.

A amostra de sangue através de punção no dedo deve ser testada imediatamente.

Para a recolha de amostras de sangue total por punção venosa:

Os recipientes contendo anticoagulantes como EDTA, citrato de sódio, oxalato de potássio ou heparina sódica devem ser usados para a preparação das amostras de sangue total venoso.

O teste deve ser realizado imediatamente após a recolha da amostra. Não deixar amostras à temperatura ambiente por um período de tempo prolongado.

Se o teste for realizado dentro de 3 dias após a recolha da amostra, o sangue total recolhido por punção venosa deve ser armazenado a 2-8°C. Para uma conservação de longo prazo, as amostras deverão ser congeladas a temperaturas inferiores a -20°C.

As amostras devem estar à temperatura ambiente quando realizar o teste. Amostras congeladas deverão encontrar-se completamente descongeladas e bem misturadas antes de realizar o teste. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.

Se as amostras forem transportadas, deverão ser embaladas de acordo com as regulamentações locais para o transporte de agentes etiológicos.

9. Procedimento do teste

Permitir que os testes, amostras, solução tampão e/ou controlos atinjam a temperatura ambiente (15-30°C) antes da sua utilização.

1. Retirar o teste cassette da embalagem e utilizar assim que possível. Os melhores resultados serão obtidos se o teste for realizado imediatamente após a abertura da embalagem. Etiquetar o teste cassette com a identificação do paciente ou de controlo.

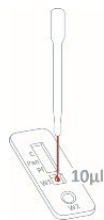
2. Colocar o teste cassette numa superfície limpa e plana.

3. Segurando a pipeta verticalmente, recolher a amostra até ao primeiro alargamento (aproximadamente 10 µL) e adicionar ao poço superior (W1) do teste cassette, de seguida adicionar 3 gotas inteiras de solução tampão ao poço inferior (W2). Evitar bolhas de ar.

4. Iniciar o cronómetro.

5. Após exactamente 5 minutos, adicionar 1 gota inteira de solução tampão ao poço superior (W1).

6. Esperar pelo aparecimento da(s) linha(s) colorida(s). Ler os resultados após 10 minutos. Não interpretar os resultados após decorridos mais de 20 minutos no total.



10. Interpretação de resultados

Positivo para infecção por *P. falciparum*

Duas linhas coloridas surgem na área de resultados. Uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C), e outra linha colorida surge na região da linha de teste 'Pf'. O resultado do teste indica a presença de HRP II e, portanto, uma infecção por *P. falciparum*.



Positivo para infecção não por *P. falciparum* (*P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale*)*

Duas linhas coloridas surgem na área de resultados. Uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C), e outra linha colorida surge na região da linha de teste 'Pan'. O resultado do teste indica a presença de pLDH e, portanto, uma infecção por *P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale*.

* em infeções por mutantes de deleção HRP II *P. falciparum*, a linha na região da linha de ensaio "Pf" não aparece. Por conseguinte, em regiões endémicas para mutantes de deleção HRP II, este tipo de resultado pode também indicar uma infecção apenas com o mutante de deleção *P. falciparum* ou uma infecção mista. Uma diferenciação entre os tipos de infecção não é possível.

Positivo para infecção mista *Plasmodium P. falciparum*

Três linhas coloridas surgem na área de resultados. Uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C) e uma linha colorida surge em cada região das linhas de teste 'Pf' e 'Pan'. O resultado do teste indica a presença de HRP II e pLDH e, portanto, ou uma única infecção com *P. falciparum* ou infecção por várias espécies de *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. malariae* e/ou *P. ovale*), incluindo *P. falciparum*.

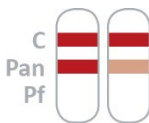
Nota: Amostras com resultados positivos devem ser confirmadas com método(s) de teste alternativo(s) e com análises clínicas antes de uma determinação positiva ser efectuada.

Negativo

Apenas uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C). Nenhuma linha colorida aparece nas regiões das linhas de teste 'Pf' e 'Pan', o que indica que nenhum antígeno de *Plasmodium* foi detectado.

Invlido

Não surge qualquer linha de controlo (C). Resultados de qualquer teste no qual não tenha surgido uma linha de controlo no tempo especificado deverão ser descartados. Por favor, rever o procedimento e repetir o teste com um novo teste cassete. Se o problema persistir, interromper a utilização do kit e contactar o distribuidor.



As razões mais prováveis para um resultado inválido são: um volume insuficiente de amostra, erros de procedimento ou testes expirados.

11. Controlo de qualidade

Um controlo interno de procedimento encontra-se incluído no teste cassete:

A linha colorida que aparece na região da linha de controlo (C), é considerada um controlo interno de procedimento. Isto confirma um volume de amostra suficiente, uma saturação de membrana adequada e um procedimento técnico correto.

As *Boas Práticas Laboratoriais (BPL)* recomendam a utilização de materiais de controlo externos para garantir um desempenho apropriado do kit de teste.

12. Limitações

- O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species é apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*. O teste deve ser usado apenas para a detecção qualitativa de antígenos de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale* em amostras de sangue total humano. Nem o valor quantitativo nem a taxa de aumento na concentração de parasitas de *Plasmodium* podem ser determinados com este teste qualitativo.
- Tal como descrito na secção 10 "Interpretação de resultados", a infecção por mutantes de deleção HRP II de *P. falciparum* não pode ser distinguida da infecção não por espécies *P. falciparum*. Por conseguinte, em áreas onde essas mutações são endémicas, devem ser efetuados testes adicionais, especialmente se for necessária uma diferenciação clara para as decisões de tratamento do doente.
- O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species indica apenas a presença de antígenos de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale* na amostra e não deve ser utilizado como único critério para o diagnóstico de uma infecção por malária.
- Como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
- Se o resultado do teste é negativo e os sintomas clínicos persistirem, é recomendada a realização de testes adicionais utilizando outros métodos de teste. Um resultado negativo não exclui, a qualquer momento, a possibilidade de infecção por malária.

13. Características de desempenho

Sensibilidade analítica

O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species para a detecção de infecção por *P. falciparum* e infecção não por *P. falciparum* de acordo com o nível de parasitas:

	Nº de parasitas/µL de sangue	Microscopia	Teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Sensibilidade
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
	Total	53	52	98,1%
Não por <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
	Total	158	157	99,4%

Sensibilidade e especificidade clínica

Método			Método de referência (microscopia)			
			Positivo		Negativo	Total
			Pv	Pf		
Teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species	Positivo	Pan	157	0	0	157
		Pf	0	52	3	55
	Negativo		1	1	324	326
	Total		158	53	327	538

Nota: O estudo de comparação para a linha 'Pan' foi realizado usando amostras de sangue positivas apenas para *P. vivax*.

Sensibilidade relativa: $(157+52) / (158+53) = 99,1\%$ (96,6%-99,7%)

Especificidade relativa: $324 / 327 = 99,1\%$ (97,3%-99,7%)

Concordância geral: $(157+52+324) / (158+53+327) = 99,1\%$ (97,8%-99,6%)

*Intervalo de confiança de 95%

Precisão

A reprodutibilidade foi estabelecida testando triplicados de 6 amostras. A repetibilidade foi estabelecida dentro do estudo de reprodutibilidade. O teste foi realizado por 3 operadores, usando 3 lotes de teste independentes NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species em 3 locais de teste em 5 dias separados.

O teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species demonstrou repetibilidade e reprodutibilidade aceitáveis quando realizado por profissionais treinados. Os valores negativos e positivos foram identificados correctamente >99% das vezes.

Substâncias de interferência

As amostras foram testadas com as seguintes substâncias potencialmente interferentes e avaliadas usando o teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test.

Substâncias potencialmente interferentes	Concentração
Hemoglobina	2 g/L
Bilirrubina (conjugada)	342 µmol/L
Bilirrubina (não conjugada)	342 µmol/L
Triglicéridos	37 mmol/L
Proteína (total)	120 g/L
Albumina	60 g/L
Globulina γ	60 g/L
Anticorpo anti-rato humano (HAMA)	780,73 IU/mL
Factor reumatóide	1035 IU/mL
Metronidazole	701 µmol/L
Quinina	148 µmol/L
Rifampicina	78,1 µmol/L
Aspirina	4,34 mmol/L
Paracetamol	199 µmol/L
Ibuprofeno	2425 µmol/L
Cafeína	308 µmol/L
Etanol	86,8 mmol/L
Etanol	86,8 mmol/L

Nenhuma das substâncias interferiu com o ensaio nas concentrações testadas.

Reactividade cruzada

As amostras clínicas foram avaliadas quanto à reactividade cruzada com infecções não relacionadas, usando o teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

Infecções não relacionadas	Nº de amostras
anti-VIH+	10
HBsAg+	20
anti-HCV+	10
anti-HAV+	20
anti-Rubéola+	20
anti-CMV+	20
anti-HSV-1+	20
anti-HSV-2+	20
Febre tifóide+	20
Febre amarela+	5
Febre Dengue+	5
anti-Influenza A+	20
anti-Influenza B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Sífilis+	20
Tuberculose+	10

Não foi observada reactividade cruzada com as infecções não relacionadas acima mencionadas quando testadas usando o teste NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species.

14. Referências

1. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
2. Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
3. Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2.

1. Avsedd användning

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test är ett lateralt flödestest baserat på immunokromatografisk metod för samtidig kvalitativ detektion och differentiering av HRP II (histidin-rikt protein II) specifikt för *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) och pLDH (plasmodiumlaktatdehydrogenas) specifikt för *Plasmodium*-arterna (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) i mänskliga helblodsprover. Testet är avsett att användas som hjälpmedel vid diagnos av malarieinfektion och är endast utformat för professionellt bruk. Alla prover som visas reagera med NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet bör bekräftas med en tilläggande analys, t.ex. mikroskopundersökning av en tunn blodutstrykning.

2. Introduktion och klinisk betydelse

Malaria är en myggburen, hemolytisk, febersjukdom. Den infekterar över 200 miljoner människor och dödar fler än 400 000 personer årligen¹. Malaria orsakas av fyra arter av *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* och *P. malariae*. Alla dessa plasmodier infekterar och förstör humana erythrocyter, vilket orsakar symtom som frossa, feber, blodbrist och mjältförstoring. *P. falciparum* orsakar allvarligare sjukdomar än de andra *Plasmodium*-arterna och står för de flesta malarierelaterade dödsfall. *P. falciparum* och *P. vivax* är de vanligaste patogenerna; det finns emellertid en betydande geografisk variation i fördelningen av *Plasmodium*-arterna.²

Traditionellt diagnostiseras malaria genom detektering av organismer på Giemsa-täckta tjocka utstrykningar med perifert blod och olika *Plasmodium*-arter kännetecknas av sin närvaro i infekterade erythrocyter.² Tekniken tillhandahåller en korrekt och tillförlitlig diagnos, men endast när den utförs av kvalificerade mikroskopister och med hjälp av bestämda protokoll,³ vilket förorsakar stora problem för avlägsna och fattiga områden i världen.

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet tillåter samtidig, kvalitativ detektion och differentiering av HRP II specifikt för *P. falciparum* och/eller pLDH producerad av samtliga *Plasmodium*-arter. Testet använder kolloidala guldkonjugater för att selektivt detektera HRP II och pLDH i mänskliga helblodsprover.

Under 2010 identifierade forskare som arbetade i den peruanska Amazonasregionen patienter som var smittade med *P. falciparum*-stammar som bar HRP II- och HRP III-genraderingar, vilket gjorde dem omöjliga att upptäcka med HRP II baserade snabbtester. Frekvensen och den globala spridningen av detta fenomen är ännu inte helt förstådd, men i ett begränsat antal länder har den relativa förekomsten av dessa raderingsmutanter visat sig vara tillräckligt hög för att ifrågasätta användbarheten av snabbtester som endast upptäcker HRP II.

3. Testprincip

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet är ett lateralt flödestest baserat på immunokromatografisk metod för samtidig, kvalitativ detektion och differentiering av HRP II specifikt för *Plasmodium falciparum* och pLDH specifikt för *Plasmodium*-arterna (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) i mänskliga helblodsprover. Membranet är förbelagt med anti-HRP II-antikroppar och anti-pLDH-antikroppar.

Under testning reagerar helblodsprovet med de färglagda konjugaterna för anti-HRP II-antikropparna och anti-pLDH-antikropparna, vilka är förbelagda på den interna testremsan. Blandningen migrerar sedan längs membranet genom kapillärverkan och reagerar med anti-HRP II-antikropparna i testlinjeområdet "Pf" och med anti-pLDH-antikropparna i testlinjeområdet "Pan". Om provet innehåller HRP II och/eller pLDH kommer en färgad linje att formas i testlinjeområdet "Pf" eller "Pan", eller så kommer en färgad linje att formas i både "Pf"-testlinjeområdet och "Pan"-testlinjeområdet.

Frånvaron av en färgad linje i testlinjeområdet "Pf" och/eller "Pan" indikerar att provet inte innehåller HRP II och/eller pLDH.

Bildandet av en färgad linje i kontrollinjeområdet (C) fungerar som en procedurkontroll, vilket indikerar att rätt provvolym har tillsatts och att membranvättning har uppstått.

4. Reagenser och tillhandahållet material

- 25 NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species testkassetter
- 25 engångspipetter (10 µL)
- 1 buffert (7 mL)
- 1 bipacksedel

5. Ytterligare material som behövs

- Tidtagarur
- Provpusslingsbehållare
- Lansetter (endast för helblodsprov från fingerstick)
- Alkoholdynor
- Minipipett (om nödvändigt)

6. Förvaring & hållbarhet

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species testkit bör förvaras vid 2-30°C och användas innan utgångsdatumet som anges på förpackningen. Testkassetterna ska förbli i förseglade påsar tills de används. Frys inte ner testkitten. Använd inte testen efter utgångsdatumet. Försiktighet bör vidtas för att skydda komponenter i testkittet från förorening. Använd inte testet om det finns bevis på mikrobiell kontaminering eller utfällning. Biologisk kontaminering av doseringsutrustning, behållare eller reagenser kan leda till falska resultat.

7. Varningar och försiktighetsåtgärder

- Endast för professionellt *in-vitro*-diagnostisk bruk.
- Läs noga igenom testproceduren innan testning påbörjas.
- Använd inte testet efter utgångsdatumet som anges på förpackningen.
- Använd inte testet om foliepåsen är skadad.
- Återanvänd inte tester.
- Tillsätt inte prov i reaktionsfältet (resultatfältet).
- Rör inte reaktionsfältet (resultatfältet) för att undvika kontamination.
- Undvik korskontaminering av prover genom att använda en ny propusslingsbehållare för varje prov som erhållits.
- Ersätt eller blanda inte komponenter från olika testkit.
- Ät, drick eller rök ej i området där prover och testkit hanteras.
- Bär skyddsklädsel som exempelvis laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon när proverna analyseras.

- Hantera samtliga provexemplar som om de skulle innehålla smittoämnen. Observera etablerade försiktighetsåtgärder för mikrobiologiska risker genom hela proceduren och standardriktlinjerna för korrekt avfallshandling av proven.
- Testkittet innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierad kunskap om djurs ursprung och/eller sanitära tillstånd garanterar inte fullständigt frånvaron av överförbara patogena ämnen. Det rekommenderas därför att dessa produkter behandlas som potentiellt smittsamma och hanteras i enlighet med vanliga säkerhetsåtgärder (t.ex. intas eller inandas ej).
- Fuktighet och temperatur kan påverka testresultaten negativt.
- Använda testmaterial ska kasseras i enlighet med lokala föreskrifter.

8. Provtagning och förberedelser

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet kan utföras genom att använda helblod (från venpunktion eller fingerstick).

För att samla in helblodsprover från fingerstick:

- Tvätta patientens hand med tvål och varmt vatten, eller rengör med en alkoholdyna. Låt den torka.
- Massera handen utan att röra den avsedda punkteringsplatsen genom att gnugga längs handen mot fingertoppen på lång- eller ringfingeret.
- Punktera huden med en steril lansett. Torka bort den första droppen blod.
- Gnugga försiktigt handen från handleden till handflatan och sedan till fingret för att bilda en rundad bloddroppe över punkteringsplatsen.

Helblodsprover från fingerstick bör testas omedelbart.

Helblodsprover från venpunktion

Behållare innehållande blodförtunningsmedel såsom EDTA, natriumcitrat, kaliumoxalat eller natriumheparin bör användas för beredning av venösa helblodsprover.

Testning bör utföras omedelbart efter provinsamling. Lämnar inte prover i rumstemperatur under längre perioder.

Om testet ska utföras inom 3 dagar efter provinsamling ska helblod uppsamlat från venpunktion förvaras vid 2-8°C. För långvarig förvaring bör proverna lagras vid -20°C.

Låt prover nå rumstemperatur före testutförandet. Frysta prover bör tinas helt och blandas väl innan testutförandet. Prover bör inte frysas och tinas upprepade gånger.

Om prover ska transporteras ska de packas i enlighet med alla gällande bestämmelser för transport av etiologiska ämnen.

9. Testproceduren

Låt test, provmaterial, buffert och/eller kontroller nå rumstemperatur (15-30°C) före testutförandet.

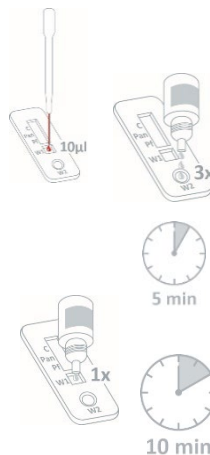
1. Ta testkassetten ur foliepåsen och använd den så snart som möjligt. De bästa resultaten kommer att erhållas om testet utförs omedelbart efter öppnandet av foliepåsen. Märk testkassetten med patient- eller kontrollidentifikation.
2. Placera testkassetten på en ren och jämn yta.

3. Håll pipetten lodrätt och sug upp prov till den första vidgningen (uppskattningsvis 10 µL) och lägg det i den övre brunnen (W1) på testkassetten. Lägg sedan till tre hela droppar buffert i den nedre brunnen (W2). Undvik luftbubblor.

4. Starta timern.

5. Lägg till en hel droppe blod i den övre brunnen (W1) efter exakt 5 minuter.

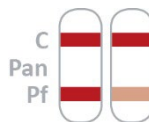
6. Vänta på att de(n) färgade linjerna/linjen framträder. Avläs resultatet efter 10 minuter. Tolka inte resultatet efter mer än 20 minuter.



10. Tolkning av resultat

Positivt för *P. falciparum*-infektion

Två färgade linjer visas i resultatområdet. En färgad linje framträder i kontrolllinjeområdet (C) och den andra färgade linjen visas i testlinjeområdet "Pf". Testresultatet indikerar närvaron av HRP II och därmed en *P. falciparum*-infektion.



Positivt för en icke-*P. falciparum*-infektion (*P. vivax*, *P. malariae* eller *P. ovale*)*

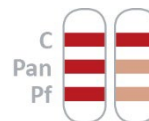
Två färgade linjer framträder i resultatområdet. En färgad linje framträder i kontrolllinjeområdet (C) och den andra färgade linjen framträder i testlinjeområdet "Pan". Testresultatet indikerar närvaron av pLDH och därmed infektion med *P. vivax*, *P. malariae* eller *P. ovale*.



* vid infektioner med *P. falciparum* HRP II-raderingsmutanter visas inte linjen "Pf" i testlinjeområdet. Därför kan ett sådant resultat i områden där HRP II-raderingsmutanter är endemiska också indikera en infektion med endast *P. falciparum*-raderingsmutanten eller en blandinfektion. En åtskillnad mellan infektionstyper är inte möjlig.

Positivt för *P. falciparum*/blandad *Plasmodium*-infektion

Två färgade linjer framträder i resultatområdet. En färgad linje framträder i kontrolllinjeområdet (C) och en färgad linje visas i varje testlinjeområde, "Pf" och "Pan". Testresultatet indikerar närvaron av både HRP II och pLDH och därmed antingen en enstaka infektion med



P. falciparum eller infektion med flera *Plasmodium*-arter (*P. vivax*, *P. malariae* och/eller *P. ovale*), inklusive *P. falciparum*.

OBS: Prov med positiva resultat bör bekräftas med alternativ(a) testmetod(er) och kliniska fynd innan ett positivt fastställande görs.

Negativt

Endast en färgad linje visas i kontrollinjeområdet (C). Ingen färgad linje framträder i testlinjeområde "Pf" och "Pan", vilket indikerar att inga *Plasmodium*-antigener har detekterats.



Ogiltigt

Kontrollinjen (C) visas inte. Resultat från alla test som inte har genererat en kontrollinje under den specificerade avläsningstiden måste kasseras. Läs igenom proceduren och upprepa testet med en ny testkasset. Om problemet kvarstår, sluta använda testkittet omedelbart och kontakta din distributör.



OBS:

Färgintensiteten i testlinjeområdet kan variera beroende på koncentrationen av analyten i provet. Därför bör alla nyanser av färgskugga i testlinjeområdet anses vara positiva. Observera att detta endast är ett kvalitativt test och det kan inte bestämma koncentrationen av analyten i provet.

Otillräcklig provvolym, felaktigt procedurförande eller utgångna tester är de troligaste orsakerna till att kontrollinjen inte framträder.

11. Kvalitetskontroll

En intern procedurkontroll ingår i testkassetten:

En färgad linje i kontrollinjeområdet (C) anses vara en intern procedurkontroll. Den bekräftar tillräcklig provvolym, tillräcklig fuktning av membran och korrekt procedurteknik.

God laboratoriepraxis (GLP) rekommenderar användning av externa kontrollmaterial för att säkerställa ordentlig testkitprestanda.

12. Begränsningar

- NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet är endast för professionellt *in-vitro*-diagnostiskt bruk. Testet bör endast användas för kvalitativ detektion av antigener för *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* eller *P. ovale* i mänskliga helblodsprover. Varken det kvantitativa värdet eller takten på ökning av koncentrationen av *Plasmodium*-parasiter kan bestämmas med detta kvalitativa test.
- Som beskrivet i avsnitt 10 "Tolkning av resultat" kan infektion med *P. falciparum* HRP II-raderingsmutanter inte särskiljas från infektion med icke-*P. falciparum*-arter. Därför måste ytterligare tester utföras i områden där sådana mutanter är endemiska, särskilt om en tydlig åtskillnad krävs för beslut om patienthantering.

- NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet indikerar endast närvaron av antigener för *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* eller *P. ovale* i provet, och bör inte användas som enda kriterium för diagnos av en malariainfektion.
- Som vid alla diagnostiska test ska samtliga resultat tolkas i kombination med annan klinisk information som finns tillgänglig för läkaren.
- Om testresultatet är negativt och kliniska symptom kvarstår, rekommenderas ytterligare tester med andra kliniska metoder. Ett negativt resultat utesluter inte någonsin en möjlig malariainfektion.

13. Prestandaegenskaper

Analytisk sensitivitet

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet för detektion av *P. falciparum*-infektion och icke-*P. falciparum*-infektion enligt parsitivité:

	Antal parasiter/μL blod	Mikroskopi	NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Sensitivitet
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
Totalt	53	52	98,1%	
Icke- <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
Totalt	158	157	99,4%	

Klinisk sensitivitet och specificitet

Metod	Referensmetod (mikroskopi)					
	Positivt		Negativt	Totalt		
	Pv	Pf				
NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Positivt	Pan	157	0	0	157
		Pf	0	52	3	55
	Negativt		1	1	324	326
	Totalt		158	53	327	538

OBS: Jämförelsestudien för "Pan"-linjen utfördes genom att använda blodprover positiva endast för *P. vivax*.

Relativ sensitivitet: $(157+52)/(158+53)=99,1\%$ (96,6%-99,7%)

Relativ specificitet: $324/327=99,1\%$ (97,3%-99,7%)

Översiktlig överensstämmelse:

$(157+52+324)/(158+53+327)=99,1\%$ (97,8%-99,6%)

* 95% konfidensintervall

Precision

Reproducerbarheten fastställdes genom att testa triplikat av 6 prover. Repeterbarheten fastställdes inom reproducerbarhetsstudien. Testning utfördes av 3 operatörer genom användning av 3 oberoende NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4

Species testpartier på 3 olika testplatser under 5 separata dagar.

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet uppvisade acceptabel repeterbarhet och reproducerbarhet när det utfördes av utbildade professionella. De negativa och positiva värdena identifierades korrekt >99% av gångerna.

Interfererande ämnen

Prover spetsades med följande potentiellt interfererande ämnen och utvärderades med hjälp av NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet.

Potentiellt interfererande ämnen	Koncentration
Hemoglobin	2 g/L
Bilirubin (konjugerat)	342 µmol/L
Bilirubin (okonjugerat)	342 µmol/L
Triglycerider	37 mmol/L
Protein (totalt)	120 g/L
Albumin	60 g/L
γ globulin	60 g/L
Mänsklig anti-mus-antikropp (HAMA)	780,73 IU/mL
Reumatoidfaktor	1035 IU/mL
Metronidazol	701 µmol/L
Kinin	148 µmol/L
Rifampicin	78,1 µmol/L
Aspirin	4,34 mmol/L
Paracetamol	199 µmol/L
Ibuprofen	2425 µmol/L
Koffein	308 µmol/L
Etanol	86,8 mmol/L

Inget av ämnena påverkade analysen vid de testade koncentrationerna.

Korsreaktivitet

Kliniska prover utvärderades för korsreaktivitet med orrelaterade infektioner med hjälp av NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet.

Orelaterade infektioner	Antal prover
anti-HIV+	10
HBsAg+	20
anti-HCV+	10
anti-HAV+	20
anti-Rubella+	20
anti-CMV+	20
anti-HSV-1+	20
anti-HSV-2+	20
Tyfoidfieber+	20
Gula febern+	5
Denguefieber+	5
anti-influensa A+	20
anti-influensa B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Syfilis+	20
Tuberkulos+	10

Ingen korsreaktivitet observerades med ovan nämnda orrelaterade infektioner när de testades med NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species-testet.

14. Referenser

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, 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.

Rev. 0, 2023-11-13 GG

1. Beoogd gebruik

De NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test is een laterale stroomchromatografisch immunoassay voor de gelijktijdige kwalitatieve detectie en differentiatie van HRP II (histidine-rich protein II) specifiek voor *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) en pLDH (plasmodium lacate hydrogenase) specifiek voor Plasmodium-soorten (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*) in humane volbloedmonsters. De test is bedoeld voor gebruik als hulpmiddel bij de detectie van een malaria-infectie en is exclusief bedoeld voor professioneel gebruik. Elk monster dat reactief blijkt te zijn met de NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test moet worden bevestigd met een aanvullende test, bijv. het microscopisch onderzoek van een dun bloeduitstrijkje.

2. Introductie en klinische betekenis

Malaria is een door muggen overgedragen, hemolytische, febriële ziekte. Deze ziekte infecteert ieder jaar 200 miljoen mensen waarvan uiteindelijk jaarlijks meer dan 400.000 mensen overlijden.¹ Malaria wordt veroorzaakt door vier soorten *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* en *P. malariae*. Al deze Plasmodia infecteren en vernietigen menselijke erythrocyten, waardoor symptomen als rillingen, koorts, bloeddarmoede en splenomegalie ontstaan. *P. falciparum* veroorzaakt een ernstiger vorm van de ziekte dan de andere *Plasmodium*-soorten en veroorzaakt het grootste deel van de aan malaria gelieerde sterfgevallen. *P. falciparum* en *P. vivax* zijn de meest voorkomende pathogenen; er bestaat, echter, een aanzienlijke geografische variatie in de distributie van *Plasmodium*-soorten.²

Traditioneel wordt malaria gediagnosticeerd door de detectie van organismen op Giemsa-gekleurde dikke uitstrijkjes van perifeer bloed waarbij verschillende Plasmodium-soorten onderscheiden zich door hun aanwezigheid in geïnfecteerde erythrocyten.² De techniek biedt een nauwkeurige en betrouwbare diagnose, maar alleen bij uitvoer uitgevoerd door ervaren microscopisten met behulp van gedefinieerde protocollen,³ wat grote hindernissen voor afgelegen en arme delen van de wereld oplevert.

De NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test maakt de gelijktijdige, kwalitatieve detectie en differentiatie van HRP II specifiek voor *P. falciparum* en/of pLDH, dat door alle *Plasmodium*-soorten wordt geproduceerd. De test gebruikt colloïdaal-goudconjugaten om selectief HRP II en pLDH in humane volbloedmonsters te detecteren.

In 2010, identificeerden onderzoekers die in het Peruaanse Amazonegebied werkten, patiënten die waren geïnfecteerd met *P. falciparum*- stammen die drager waren van HRP II- en HRP III-gendeleities, waardoor ze niet detecteerbaar waren door op HRP II gebaseerde sneltests. De frequentie en mondiale verspreiding van dit fenomeen zijn nog niet volledig bekend, maar in een beperkt aantal landen is de relatieve incidentie van deze deletiemutanten hoog genoeg gebleken om het nut van sneltests die alleen HRP II detecteren in twijfel te trekken.

3. Testprincipe

De NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test is een laterale stroomchromatografisch immunoassay voor de gelijktijdige kwalitatieve detectie en differentiatie van HRP II (histidine-rich

protein II) specifiek voor *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) en pLDH specifiek voor *Plasmodium*-soorten (*P. falciparum*, *P. vivax*, *Pl. malariae*, *P. ovale*) in humane volbloedmonsters. Het membraan is vooraf gecoat met anti-HRP II-antilichamen en anti-pLDH-antilichamen.

Tijdens de test reageert het volbloedmonster met de conjugaten van kleurstoffen met anti-HRP II-antilichamen en anti-pLDH-antilichamen welke vooraf of de interne teststrip aangebracht zijn. Het mengsel beweegt vervolgens door capillaire werking over het membraan en reageert met anti-HRP II-antilichamen in testlijngebied 'Pf' en met anti-pLDH-antilichamen in testlijngebied 'Pan'. Indien het monster HRP II en/of pLDH bevat zal een gekleurde lijn ontstaan in testlijngebied 'Pf' of 'Pan', of zal er een gekleurde lijn ontstaan in zowel het 'Pf' testlijngebied als het 'Pan' testlijngebied.

Afwezigheid van een gekleurde lijn in testlijngebieden 'Pf' en/of 'Pan' geeft aan dat het monster geen HRP II en/of pLDH bevat.

De aanwezigheid van een gekleurde lijn in het controlelijngebied (C) dient als procedurele controle en betekent dat er voldoende testmonster is aangebracht en dat het membraan voldoende doorlatend is.

4. Meegeleverde reagentia en materialen

- 25 NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species testcassettes
- 25 wegwerppipetten (10 µL)
- 1 buffer (7 mL)
- 1 bijsluiters

5. Overig benodigd materiaal

- Stopwatch
- Monsterverzamelcontainer
- Lancetten (alleen voor volbloedmonsters uit vingervrik)
- Alcoholdoekjes
- Micropipet (indien nodig)

6. Opslag & stabiliteit

NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Testkits dienen bij 2-30°C te worden bewaard en voor verstrijken van de houdbaarheidsdatum op de verpakking te worden gebruikt. Testcassettes dienen tot gebruik in de verzegelde buidels te blijven. Niet invriezen. Gebruik de tests niet als de houdbaarheidsdatum is verstreken. De verschillende onderdelen van de testkit dienen te worden beschermd tegen besmetting. Gebruik de testcassettes niet indien er een mogelijke micro-bacteriële besmetting of neerslag is. Biologische besmetting van monsterhouders, reagentia of andere testbenodigdheden kunnen leiden tot onnauwkeurige resultaten.

7. Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- Uitsluitend bestemd voor professionele *in-vitro* diagnostisch gebruik.
- Lees aandachtig de gebruiksaanwijzing door alvorens uitvoer van de test.
- Niet gebruiken indien de houdbaarheidsdatum op de verpakking verstreken is.
- Niet gebruiken indien de verpakking beschadigd is.
- Uitsluitend bestemd voor eenmalig gebruik.

- Breng geen monster aan op het reactieve gedeelte (resultaatgedeelte).
- Om besmetting te voorkomen dient het reactieve gedeelte (resultaatgedeelte) niet aangeraakt te worden.
- Vermijd kruisbesmetting van monsters door voor ieder monster een nieuwe monsterverzamelbak te gebruiken.
- Substitueer of meng geen componenten van verschillende testkits.
- Niet eten, drinken of roken in de buurt van waar de monsters en test kits worden gebruikt.
- Draag beschermende kleding, zoals laboratoriumjassen, wegwerphandschoenen en veiligheidsbril wanneer de monsters worden getest.
- Behandel monstermateriaal als zijnde besmettelijk. Neem tijdens het uitvoeren van de test de richtlijnen in acht voor microbiologische risico's en voor het juist verwerken van monstermateriaal.
- De testkit bevat producten van dierlijke oorsprong. Gecertificeerde kennis van de herkomst en/of hygiënische omstandigheden van de dieren geeft geen volledige garantie voor de afwezigheid van overdraagbare ziekteverwekkers. Om deze reden wordt aangeraden dat deze producten behandeld worden als zijnde besmettelijk, en dienen deze te worden behandeld met standaard veiligheidsmaatregelen. (bijv. niet inslikken of inademen).
- Vochtigheid en temperatuur kan een negatief effect hebben op de testresultaten.
- Gebruikte testmaterialen dienen te worden vernietigd/weggegooid volgens de plaatselijke voorschriften.

8. Monsterverzameling en -preparatie

De NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test kan met volbloed (uit venapunctie of vingerprik) worden uitgevoerd.

Voor het verzamelen van vingerprikbloedmonsters:

- Was de hand van de patiënt met zeep en warm water of maak deze schoon met een alcoholdoekje. Laat de hand drogen.
- Masseer de hand, zonder de plaats van punctie aan te raken, door over de hand richting de vingertop van de middel- of ringvinger te wrijven.
- Prik de huid met een steriel lancet. Wrijf de eerste druppel bloed weg.
- Wrijf zachtjes over de hand van de pols, via de handpalm, tot de vinger om een ronde druppel bloed uit de plaats van punctie te doen stromen.

Uit vingerprik verkregen volbloed dient onmiddellijk te worden getest.

Venapunctievolbloedmonsters

Containers die antistolmiddelen bevatten, zoals EDTA, natriumcitraat, kaliumoxalaat of natriumheparine dienen te worden gebruikt voor de preparatie van veneuze volbloedmonsters.

Tests dienen onmiddellijk na monsterverzameling te worden uitgevoerd. Laat het monster niet gedurende langere tijd op kamertemperatuur staan.

Indien de test binnen 3 dagen na afname van het monster zal worden uitgevoerd, dient u uit venapunctie verkregen

volbloed bij 2-8°C te bewaren. Voor langere opslagtijd dient het monster onder de -20°C te worden bewaard.

Bring samples to room temperature prior to testing. Frozen samples should be completely thawed and mixed well prior to testing. Samples should not be frozen and thawed repeatedly.

Indien monsters verscheept moeten worden, moeten ze verpakt worden overeenkomstig de lokale regelgeving omtrent transportatie van etiologische agentia.

9. Testprocedure

Breng tests, monsters, buffers en/of controles op kamertemperatuur (15-30°C) vooraf aan het testen.

1. Verwijder de testcassette uit de aluminium buidel en gebruik deze zo spoedig mogelijk. U bereikt de beste resultaten indien u de test onmiddellijk na opening van de buidel gebruikt. Label de testcassette met de patiënt- of controlegegevens.
2. Plaats de testcassette op een schone en vlakke ondergrond.
3. Houd de pipet verticaal en zuig het monster tot aan de eerste verbreding op (ca. 10 µL) en voeg dit toe aan het bovenste reservoir (**W1**) van de testcassette en voeg vervolgens 3 druppels buffer toe aan het onderste reservoir (**W2**). Vermijd luchtballen.
4. Start de stopwatch.
5. Voeg na exact **5 minuten** 1 hele druppel van de buffer toe aan het bovenste reservoir (**W1**).
6. Wacht tot er een gekleurde lijn of lijnen verschijnen. Lees het resultaat na 10 minuten af. Interpreteer de resultaten na 20 minuten niet meer.



10. Resultaatinterpretatie

Positief voor *P. falciparum*-infectie

Er verschijnen twee gekleurde lijnen in het resultaatveld. Er verschijnt één gekleurde lijn in het controlelijngedebied (C) en een andere gekleurde lijn verschijnt in het testlijngedebied 'Pf'. Dit testresultaat geeft de aanwezigheid van HRP II en daarmee een infectie met *P. falciparum* aan.



Positief voor non-*P. falciparum*-infectie (*P. vivax*, *P. malariae* of *P. ovale*)*

Er verschijnen twee gekleurde lijnen in het resultaatveld. Er verschijnt één gekleurde lijn in het controlelijngedebied (C) en een andere gekleurde lijn verschijnt in het testlijngedebied 'Pan'. Dit testresultaat geeft de aanwezigheid van pLDH en daarmee een infectie met *P. vivax*, *P. malariae*, of *P. ovale* aan.



* bij infecties met *P. falciparum* HRP II-deletiemutanten verschijnt de lijn in het testlijngedebied 'Pf' niet. Daarom zou zo'n resultaat, in regio's die endemisch zijn voor HRP II-deletiemutanten, ook kunnen duiden op een infectie met de *P. falciparum*-deletiemutant alleen of op een gemengde infectie. Een onderscheid tussen infectietypen is niet mogelijk.

Positief voor *P. falciparum*/gemengde *Plasmodium*-infectie

Er verschijnen twee gekleurde lijnen in het resultaatveld. Er verschijnt één gekleurde lijn in het controlelijngedebied (C) en er verschijnt een gekleurde lijn in elk testlijngedebied ('Pf' en 'Pan'). Dit testresultaat geeft de aanwezigheid van zowel HRP II als pLDH aan en daarmee dus ofwel een enkele infectie met *P. falciparum* of een infectie met meerdere *Plasmodium*-soorten (*P. vivax*, *O. malariae* en/of *P. ovale*), inclusief *P. falciparum*.



Notitie: Monsters die positieve resultaten vertonen dienen met alternatieve methode(n) en klinische bevindingen te worden bevestigd voordat een positieve bepaling wordt gemaakt.

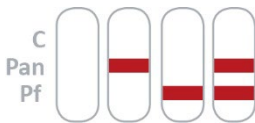
Negatief

Er verschijnt slechts één gekleurde lijn in het controlelijngedebied (C). Er verschijnt geen gekleurde lijn in de testlijngedebieden 'Pf' of 'Pan' wat aangeeft dat er geen *Plasmodium*-antigenen zijn gedetecteerd.



Ongeldig

De controlelijn (C) verschijnt niet. Resultaten van een test waarbij geen controlelijn zichtbaar wordt binnen de afleestijd, dienen te worden verworpen. Herzie de testprocedure en herhaal de test met een nieuwe testcassette. Indien het probleem zich blijft voordoen, stop dan met het gebruik van de testkits en neem contact op met uw leverancier.



Notitie:

De kleurintensiteit in het testlijngedebied kan variëren afhankelijk van de analytconcentratie in het monster. Hierdoor kan elk kleurniveau in het testlijngedebied als positief worden beschouwd. Let wel op dat dit een kwalitatieve test is waarbij geen concentratie hCG in het monster kan worden bepaald.

Onvoldoende monstermateriaal, incorrecte uitvoering of tests waarvan de houdbaarheidsdatum is verstreken zijn de meest voorkomende redenen voor het niet verschijnen van een controlelijn.

11. Kwaliteitscontrole

Een interne procedurele controle is inbegrepen in de testcassette.

Een gekleurde lijn die verschijnt in het controlelijngedebied (C) wordt beschouwd als een interne procedurele controle. Deze bevestigt voldoende monstermateriaal, voldoende doorlatendheid van het membraan en correcte procedurele uitvoering.

Goede Laboratoriumpraktijken (GLP) raadt het gebruik van extern controlemateriaal aan om correcte werking van de testkit te garanderen.

12. Beperkingen

- The NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test is exclusief bedoeld voor *in-vitro* diagnostisch gebruik. De test dient alleen te worden gebruikt voor de kwalitatieve detectie van *P. falciparum*-, *P. vivax*-, *P. malariae*- of *P. ovale*-antigenen in humane volbloedmonsters. Noch de kwantitatieve waarde, noch de mate van toename van de concentratie van IgM-antilichamen tegen CMV kunnen door deze kwalitatieve test worden bepaald.
- Zoals beschreven in paragraaf 10 'Interpretatie van de resultaten' kan infectie met HRP II-deletiemutanten van *P. falciparum* niet worden onderscheiden van infectie met niet-*P. falciparum* soorten. Daarom moeten in gebieden waar dergelijke mutanten endemisch zijn, aanvullende tests worden uitgevoerd, vooral als een duidelijk onderscheid nodig is voor beslissingen over patiëntbeheer.
- De NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test geeft slechts de aanwezigheid van *P. falciparum*-, *P. vivax*-, *P. malariae*- of *P. ovale*-antigenen in het monster aan en dient niet te worden gebruikt als het enige criterium voor de diagnose van een malaria-infectie.
- Zoals bij alle diagnostische tests dienen alle resultaten in combinatie met andere klinische informatie door een arts te worden geïnterpreteerd.
- Indien het testresultaat negatief is en klinische symptomen aanhouden, wordt aangeraden met andere klinische methoden verder te testen. Een negatief resultaat sluit op geen enkel moment de mogelijkheid van een malaria-infectie uit.

13. Prestatiekenmerken

Analytische sensitiviteit

De NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test voor de detectie van *P. falciparum*-infectie en niet-*P. falciparum*-infectie volgens het parasitenniveau:

	Aantal parasieten /µl bloed	Microscopie	NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Sensitiviteit
<i>P. falciparum</i>	1-100	12	11	91,7%
	101-200	15	15	100%
	201-500	10	10	100%
	500-1000	9	9	100%
	>1000	7	7	100%
	Totaal	53	52	98,1%

	Aantal parasieten /µL bloed	Microscopie	NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Sensitiviteit
Non- <i>P. falciparum</i>	1-100	38	37	97,4%
	101-200	43	43	100%
	201-500	37	37	100%
	500-1000	28	28	100%
	>1000	12	12	100%
	Totaal	158	157	99,4%

Klinische sensitiviteit en specificiteit

Methode			Referentiemethode (microscopie)			
			Positief		Negatief	Totaal
			Pv	Pf		
NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test	Positief	Pan	157	0	0	157
		Pf	0	52	3	55
	Negatief		1	1	324	326
	Totaal		158	53	327	538

Notitie: De vergelijkingsstudie voor de "Pan"-rij is uitgevoerd met bloedmonsters welke alleen positief zijn voor *P. vivax*.

Relatieve sensitiviteit: $(157+52)/(158+53)=99,1\%$ (96,6%-99,7%)

Relatieve specificiteit $324/327=99,1\%$ (97,3%-99,7%)

Algehele overeenkomst: $(157+52+324)/(158+53+327)=99,1\%$ (97,8%-99,6%)

*95% Betrouwbaarheidsinterval

Precisie

Reproduceerbaarheid is bepaald door het testen van triplicaten van 6 monsters. Herhaalbaarheid is binnen de reproduceerbaarheidsstudie bepaald. Tests zijn door 3 gebruikers met 3 verschillende batches van de NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test op 3 testlocaties op 5 verschillende dagen uitgevoerd.

De NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test vertoont een acceptabele herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid wanneer deze door getrainde professionals wordt uitgevoerd. De negatieve en positieve waarden zijn in >99% van de gevallen correct geïdentificeerd.

Interfererende substanties

Monsters zijn verrijkt met de volgende potentieel interfererende substanties en geëvalueerd met de NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test.

Potentieel interfererende substanties	Concentratie
Hemoglobine	2 g/L
Bilirubine (geconjugeerd)	342 µmol/L
Bilirubine (niet geconjugeerd)	342 µmol/L
Triglyceriden	37 mmol/L
Proteïne (totaal)	120 g/L
Albumine	60 g/L
γ-globuline	60 g/L
Humaan anti-muis-antilichaam (HAMA)	780,73 IU/mL

Potentieel interfererende substanties	Concentratie
Rheumafactor	1035 IU/mL
Metronidazol	701 µmol/L
Kinine	148 µmol/L
Rifampicine	78,1 µmol/L
Aspirine	4,34 mmol/L
Paracetamol	199 µmol/L
Ibuprofen	2425 µmol/L
Cafeïne	308 µmol/L
Ethanol	86,8 mmol/L

Geen van deze substanties interfereerde met het assay bij de geteste concentraties.

Kruisreactiviteit

Klinische monsters zijn op kruisreactiviteit met ongerelateerde infecties met de NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test geëvalueerd.











Ongerelateerde infecties	Aantal monsters
anti-HIV+	10
HBsAg+	20
anti-HCV+	10
anti-HAV+	20
anti-Rubella+	20
anti-CMV+	20
anti-HSV-1+	20
anti-HSV-2+	20
Tyfus+	20
Gele koorts+	5
Dengue+	5
anti-Influenza A+	20
anti-Influenza B+	10
anti-Toxoplasma gondii+	10
Syfilis+	20
Tuberculose+	10











Er is geen kruisreactiviteit geobserveerd met bovenstaande ongerelateerde infecties wanneer deze met de NADAL® Malaria Pf/Pan Ag 4 Species Test worden getest.

14. Referenties

- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/malaria-control-africa/en/>
- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2.

Rev. 0, 2023-11-13 HB

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consultense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	<i>In-vitro</i> -Diagnostika	<i>In-vitro</i> diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnosticc <i>in-vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Dispositivo medico-diagnostico <i>in-vitro</i>	Tylko do diagnostyki <i>in-vitro</i>
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in-vitro</i>	<i>In-vitro</i> - diagnostikkkaan tarkoitettu lääkinällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in-vitro</i> -diagnostik	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	Medicinsk udstyr til <i>in-vitro</i> -diagnostik	<i>In-vitro</i> diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperaturbegränsning	Temperatuurlimiet	Temperaturbegrænsning	Temperaturbegrensning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merkning
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il lingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Producent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrækkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0
 Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
 Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
 Free Tel: 0800 291 565
 Fax: +49 290 10-50
 Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
 Free Tel –UK: 0808 234 1237
 Free Tel – IRE: 1800 555 080
 Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
 France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
 Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
 Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux, Tel: 800 211 16
 Lux, Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
 Free Tel: 900 938 315
 Fax: +49 941 290 10-50
 Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
 Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
 Free Tel: 00 800 491 15 95
 Fax: +49 941 290 10-50
 Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
 Tel, Verde: 800 849 230
 Fax: +49 941 290 10-50
 Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
 Free Tel: 0800 0222 890
 Fax: +31 70 30 30 775
 Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries:

Denmark

Tel: +31 703075 605
 Free Tel: 808 887 53

Finland

Tel: +31 703075 606
 Free Tel: 0800 918 263
 Free Fax: 0800 918 262

Norway

Tel: +31 703075 605
 Free Tel: 800 16 731

Sweden

Tel: +31 703075 605
 Free Tel: 020 79 09 06

