



*Vital Answers For
Better Health...NOW*

NOW[®]

Malaria
TEST

POUŽITÍ

Binax NOW[®] Malaria TEST je rychlá imunochromatografická metoda pro kvalitativní stanovení antigenů *Plasmodium falciparum* (PF), *Plasmodium vivax* (PV), *Plasmodium malariae* (PM) a *Plasmodium ovale* (PO) v plné krvi.
(US patenty č.:5,877,028; 5,998,220; 6,017,767)

PRINCIPY STANOVENÍ

Now[®] Malaria je rychlý imunochromatografický test pro detekci cirkulujícího antigenu specifického pro *Plasmodium falciparum* a antigenů společných pro *Plasmodium falciparum* (PF), *Plasmodium vivax* (PV), *Plasmodium malariae* (PM) a *Plasmodium ovale* (PO) v plné krvi. Na membráně testovacího proužku – stripu- jsou imobilizovány dva typy protilátek, první protilátka je namířena proti antigenu II bohatého na histidin (PF HRPII), druhá protilátka reaguje s antigenem společným pro rod *Plasmodium*.

Na testovacím stripu je kontrolní zóna C, ve které se při správně provedeném testu objeví barevný proužek. Na nanášecí oblast stripu se aplikuje 15 µl plné krve, tato část stripu obsahuje specifické protilátky značené koloidním zlatem. Poté se na stejnou oblast na stripu aplikuje reagentie umožňující tvorbu imunitního komplexu, který pak putuje podél stripu do detekční zóny, kde je komplex zachycen další navázanou protilátkou. Po reakci imunokomplexu s imobilizovanou protilátkou (pozitivní vzorek) se objeví v okénku pro odečtení výsledku reakce jeden až dva barevné proužky. Je-li aplikovaný vzorek negativní, nedojde k vytvoření barevného proužku v této oblasti.

Poděkování.

Binax, Inc. Děkuje panu F. Hoffmanovi z La Roche Corporation za laskavé poskytnutí protilátek pro tento test.

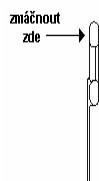
REAGENCIE A MATERIÁL

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Binax NOW® Malaria TEST



- Testovací kazeta s membránou (potaženou protilátkami specifickými proti antigenu PF, PV, PO, PM a kontrolní konjugovaná protilátka). Nepoužitý testovací proužek má vždy kontrolní linii modré barvy.



- Kapiláry o objemu 15 μ L. Kapiláry se používají k odebrání vzorku plné krve a jeho přenesení na membránu testovací kazety.
- Lahvička s reagentem malaria reagent A
- Návod k použití

NEPOSKYTOVANÝ MATERIÁL

- Stopky nebo budík
- Lancety
- Sterilní gáza

Odběr vzorku

Pro odběr je třeba používat EDTA upravené kapiláry o objemu cca 15 μ l, nebo žilní krev odebranou do zkumavky, která obsahuje EDTA.

- Pro získání kapilární krve z prstu, paty nebo jiného vhodného místa, je třeba nejprve očistit oblast vpichu sterilní gázou navlhčenou vhodnou desinfekcí a poté místo otřít suchým sterilním čtverečkem gázy. Pomocí lancety či sterilní jehly se provede vpich. Z takto vydezinfikovaného místa se ihned odebere vzorek krve do připravené kapiláry.
- Odběr žilní krve se provádí pomocí běžné procedury do zkumavky s EDTA. Jestliže test nemůže být proveden ihned, lze takto odebranou krev uchovávat při teplotě +2 až +8°C až 3 dny.

Upozornění

- Optimálních výsledků může být dosaženo pouze při striktním dodržení tohoto návodu. Reagencie se musí dávkovat přesně a pečlivě. Použité kazety je třeba považovat za biologicky rizikový materiál. Použité kazety nemohou být otevřeny a znovu použity.

- Biologická kontaminace použitého materiálu (pipety, odběrové zkumavky či kapiláry) může vést k falešně pozitivním výsledkům. Se vzorkem je třeba zacházet za podmínek dodržování laboratorní čistoty tak, aby nedošlo k mikrobiální kontaminaci a to po celou dobu provádění testu.
- Soupravu s datem po expirační době uvedeném na balení nelze používat. Balení se musí uchovávat v suchu při teplotě +15 až +30°C.
- Reagencie A obsahuje azid sodný jako konzervační činidlo. Azid sodný je toxický, a proto je třeba s reagentií zacházet opatrně tak, aby bylo vyloučeno náhodné pozření či potřísnění pokožky. Azid sodný může reagovat s mědí či olovem, které mohou být součástí odpadního potrubí, za vytvoření explozivních, kovy obsahujících azidů. Při vylévání nespotřebovaného materiálu je třeba spláchnout zbytky azidu nadměrným množstvím vody.
- Nelze míchat reagentie z různých výrobních šarží.

Postup stanovení

1. Před zahájením práce musí být všechny složky soupravy vytemperovány na pokojovou teplotu. Kazetu rozbalte a otevřete těsně před nanášením vzorku a nechte ve vodorovné poloze
2. Do EDTA kapiláry odeberte vzorek krve z prstu či paty. Kapilára musí být zcela naplněná. Alternativně je možné použít 15μl žilní krve odebrané klasickým způsobem do EDTA zkumavky. Rovněž vzorek krve musí být vytemperován na pokojovou teplotu.
3. Pomalu naneste vzorek krve z kapiláry na purpurové políčko nanášecí oblasti stripu (viz obr v kazetě 1.). Vzorek krve se nanese pouhým přiložením kapiláry ve svislé poloze na nanášecí oblast a jemným opakovaným přitlačením na několik míst políčka. Není nutné aplikovat celý objem krve z kapiláry. Jestliže se zdá, že krev se přestává vsakovat nebo dosahuje méně než polovinu testovacího proužku po 1 minutě pokračujte v dalším kroku.
Tzn. že jakmile je purpurové políčko nasáklé je možné kapiláru vyhodit. Při aplikaci žilní krve je třeba mikropipetou pomalu a po kapkách nanést 15μl vzorku tak, aby vzorek kompletně zasáknul.
DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ: nesprávná aplikace vzorku může vést k nekorektním výsledkům, resp. k selhání testu.
4. Na bílé políčko (viz obr 2.) pod purpurovým políčkem přidejte 2 kapky reagentie A - lahvičku je třeba držet ve svislé poloze.
5. Další 4 kapky reagentie A aplikujte na horní políčko na levé straně otevřeného psaníčka (viz obr 3.).
6. Odstraňte pásku z adhezivního proužku po straně psaníčka (viz. obr. 4) Ujistěte se, že adhezivní proužek je odkryt.
7. Ponechte dokonale vsáknout vzorek po celé délce testovacího stripu.
Počkejte, dokud se lyzát z červených krvinek nedostane až na počátek bílého absorpčního políčka na vrcholu stripu (viz obr 5.).
8. Ihned uzavřete psaníčko. Aby test proběhl korektně, důkladně k sobě přitiskněte okraje psaníčka v oblasti adhezivního proužku. Začněte měřit čas.

- Po 15 minutách je možné odečíst výsledky v okénku psaníčka. Silně pozitivní vzorky lze odečíst dříve. Interpretace výsledků je znázorněna na dále uvedeném diagramu.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Infekce PF:

Zbarvené proužky v blízkosti zón T1 a C znamenají pozitivní výsledek.

Infekce PF nebo smíšená infekce (PF, PV, PO, PM):

Zbarvené proužky v blízkosti zón T1, T2 a C znamenají pozitivní výsledek.

Infekce PV, PO, PM nebo smíšená infekce těchto tří druhů(PV, PO, PM):

Zbarvené proužky v blízkosti zón T2 a C znamenají pozitivní výsledek.

Negativní výsledek:

Test je negativní objeví-li se zbarvený proužek pouze v blízkosti zóny C.

Neplatný výsledek:

Test je neplatný neobjeví-li se zbarvený proužek v blízkosti zóny C. V tomto případě musí být test zopakován za použití nového psaníčka.

Omezení a limity testu

Pomocí tohoto testu lze identifikovat infekci vyvolanou PF, nebo infekci vyvolanou jedním ze tří dalších známých druhů PV, PO či PM. Pomocí tohoto testu nelze zjistit směsnou infekci PF s dalšími plasmodii, protože protilátka v oblasti linie 2 je společná pro všechny druhy rodu *Plasmodium*. Souprava byla testována a charakterizována pouze s použitím vzorků PF a PV. Příležitostně lze zjistit přetrvávající přítomnost antigenu PF HRPII v krvi i poté, co byla hladina PF v krvi snížena léčbou antimalariky. Diagnózu lze určit kombinací výsledku tohoto testu a klinické anamnézy a dalších laboratorních výsledků.

- Walter Reed Army Institute of research, Maryland USA in Am J Trop Med.Hyg. 2001, 65, 320-1: Preliminary evaluation of the Now® ICT Malaria P.f./P.v. rapid diagnostic device for the detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*.

Results: referenční metoda – mikroskopie

	Celkem - malárie	Malárie PF	Malárie OV
Citlivost/senzitivita	93,4 % (100/107)	100% (31/31)	89% (58/65)
Specifita		96% (206/215)	98% (177/181)

Pozn.: použité vzorky krve nebyly plně charakterizovány z hlediska parazitémie.

2. Hôpital s'Instruction des Armées B0gin, Paris, France, nepublikováno

Results: referenční metoda – PCR a mikroskopie

	Celkem - malárie	Malárie PF	Malárie OV
Citlivost/senzitivita	91,7 % (22/24)	95% (21/22)	100% (1/1)
Specifita	100% (30/30)		

Pozn.: jeden vzorek PO nebyl zařazen v testu citlivosti

Results: referenční metoda – PF citlivost versus mikroskopie

	Malárie PF
Citlivost/senzitivita	100% (20/20)
Specifita	97%* (31/32)

*Jeden vzorek se jevil ve vztahu k mikroskopii jako falešně pozitivní, tento vzorek byl rovněž pozitivní v PCR reakci.

Pozn.: použité vzorky krve nebyly plně charakterizovány z hlediska parazitémie.

Now[®] Malaria test pro analýzu plné krve

Kat. č.: 660-000 25 testů

Kat. č.: 660-005 5 testů