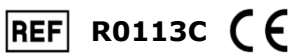


Teste Rápido **OnSite**™ Malária Pf/Pan Ag



USO PRETENDIDO

O Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag é um imunoenensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção e diferenciação simultânea do antígeno de *Plasmodium falciparum* (Pf) e *P. vivax* (Pv), *P. ovale* (Po) ou *P. malariae* (Pm) em amostra de sangue humano. Este dispositivo destina-se a ser utilizado por profissionais como um teste de triagem e fornece um resultado preliminar de teste para auxiliar no diagnóstico da infecção com plasmodium.

Qualquer uso ou interpretação deste resultado preliminar de teste deve contar com outros achados clínicos e análise dos profissionais de saúde. Os métodos de ensaio alternativo(s) devem ser considerados para confirmar o resultado do teste obtido por este dispositivo.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

A malária é uma doença hemolítica febril transmitida por mosquitos que afeta mais de 200 milhões de pessoas e mata mais de 1 milhão de pessoas por ano. A malária é causada por quatro espécies do protozoário parasita *Plasmodium*: o *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. Todos os *Plasmodium* spp. infectam e destroem os eritrócitos humanos o que leva a episódios de calafrios, febre, anemia e esplenomegalia. *P. falciparum* causa a doença mais grave do que as outras espécies de *Plasmodium* e é responsável pela maioria das mortes por malária. *P. falciparum* e o *P. vivax* são os agentes patogênicos mais comuns, no entanto, existe uma variação considerável na distribuição geográfica das espécies¹.

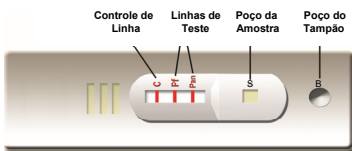
Tradicionalmente, a malária é diagnosticada pela visualização dos organismos em esfregaços de sangue periférico marcados com *Giemsa*, e as diferentes espécies de *Plasmodium* se distinguem pela aparência em eritrócitos infectados¹. Esta técnica é realizada apenas por microscopistas bem-treinados, utilizando protocolos definidos², que apresentam grandes obstáculos para áreas remotas e desfavorecidas do mundo.

O Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag foi desenvolvido para resolver estes obstáculos. O teste utiliza um par de anticorpos para detectar a proteína II rica em histidina de *P. falciparum* (pHRP-II) e um par de anticorpos para detectar a Lactato Desidrogenase plasmódica (pLDH) de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*, permitindo a detecção e diferenciação simultânea de uma infecção por *P. falciparum* e/ou qualquer das outras três espécies de plasmodium^{3,6}. Pode ser realizada em 30 minutos por pessoal minimamente treinado e sem o uso de equipamento de laboratório.

PRINCÍPIO DO TESTE

O Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag é um imunoenensaio cromatográfico de fluxo lateral. A tira no cassete de teste consiste em:

1) uma almofada conjugada cor vinho contendo anticorpo monoclonal anti-pHRP-II conjugado com ouro coloidal (conjugados pHRP-II-ouro), anticorpo monoclonal anti-pLDH conjugado com ouro coloidal e um anticorpo de controle conjugado com ouro coloidal e 2) uma tira de membrana de nitrocelulose contendo duas linhas de teste (linhas Pan e Pf) e uma linha de controle (linha C). A linha Pan é pré-revestida com anticorpo anti-pLDH para a detecção de infecção com qualquer uma das quatro espécies de plasmodium, a linha Pf é pré-revestida com anticorpos anti-pHRP-II para a detecção de infecção por Pf e a linha C é revestida com um anticorpo de controle de linha.



Durante o ensaio, distribui-se um volume adequado da amostra de sangue no poço de amostra (S) do cassete de teste e adiciona-se um tampão de lise ao poço (B). O tampão contém um detergente que lisa os glóbulos vermelhos e libera vários antígenos de plasmodium que migram por ação capilar através da tira no cassete.

O pHRP-II, se presente na amostra, irá ligar-se aos conjugados pHRP II-ouro. O imunocomplexo é então capturado na membrana pelos anticorpos anti-pHRP-II previamente revestidos formando uma linha Pf de cor vinho, indicando um resultado de teste positivo para Pf.

A pLDH, se presente na amostra, irá ligar-se aos conjugados pLDH-ouro. O imunocomplexo é então capturado na membrana pelo anticorpo anti-pLDH pré-revestido formando uma linha colorida Pan. Na presença de uma linha Pf, uma linha Pan indica um resultado positivo para Pf ou um resultado positivo para qualquer das outras três espécies de *Plasmodium* (Pv, Pm, Po). Na ausência de uma linha Pf, uma linha Pan indica um resultado positivo para Pv, Po ou Pm ou uma combinação de qualquer uma destas três espécies de *Plasmodium*.

A ausência de quaisquer linhas de teste (Pan e Pf) sugere um resultado negativo. O teste contém um controle interno (linha C) que deve exibir uma linha de cor vinho do imunocomplexo dos anticorpos de controle independentemente do desenvolvimento de cor em qualquer uma das linhas de teste. Se a linha C não se desenvolver, o resultado do teste é inválido e a amostra deve ser testada novamente com outro dispositivo.

MATERIAIS E REAGENTES INCLUÍDOS

- Bolsas de alumínio lacradas individualmente contendo:
 - Um dispositivo de cassete
 - Um dessecante
- Dispositivos de transferência de sangue de 5 µL (extrator de amostra em formato ilhó, mini conta-gotas de plástico ou tubos capilares)
- Tampão de lise sanguínea (REF SB-R0113, 10 mL/frasco)
- Um folheto informativo (Instruções de Uso)

MATERIAIS FORNECIDOS EM CERTAS CONFIGURAÇÕES DO KIT

- Swabs com Álcool
- Lancetas de segurança
- Luvas
- Utilização individual de tampão de lise sanguínea

MATERIAIS QUE PODEM SER REQUERIDOS E DISPONÍVEIS PARA COMPRA

- Kit Controle de Ensaio Teste Rápido *Positívia* Malária Ag (Cat # C0010) contendo controles positivos e negativos

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO INCLUÍDOS

- Relógio ou cronômetro

AVISOS E PRECAUÇÕES

Para uso de Diagnóstico *in Vitro*

- Esta bula deve ser lida completamente antes da realização do teste. O não cumprimento das instruções, pode levar a resultados de teste imprecisos.
- Não abra a bolsa lacrada a menos que esteja pronto para realizar o ensaio.
- Não utilize dispositivos fora do prazo de validade.
- Traga todos os materiais de ensaio à temperatura ambiente (15-30°C) antes do uso.
- Não use componentes de qualquer outro tipo de kit de teste como um substituto para os componentes deste kit.
- O sangue hemolizado pode ser usado para o teste, mas não use precipitantes.
- Use roupas de proteção e luvas descartáveis ao manusear os reagentes e amostras clínicas. Lave bem as mãos após a realização do teste.
- Os usuários deste teste devem seguir as precauções gerais do Centro de Controle e Prevenções de Doenças Americano (CDC US) para a prevenção da transmissão do HIV, HBV e outras doenças transmitidas pelo sangue.

- Não fumar, beber ou comer em áreas onde amostras e reagentes dos kits estão sendo manipulados.
- Descartar todas as amostras e materiais utilizados na realização do teste como resíduos biológicos.
- Manusear os controles negativos e positivos da mesma maneira que as amostras do paciente.
- Os resultados do teste devem ser lidos 30 minutos depois que uma amostra é aplicada no poço de amostra do dispositivo. Quaisquer resultados interpretados fora de 30 minutos deve ser considerado inválido e deve ser repetido.
- Não conduza o teste em uma sala com fluxo de ar forte, ou seja, um ventilador ou ar-condicionado forte.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM

Todos os reagentes estão prontos para uso conforme o fornecido. Armazene os dispositivos de teste fechados a 2-30°C. Se armazenado entre 2-8°C, certifique-se de que o dispositivo de teste é levado à temperatura ambiente antes de abrir. O dispositivo de teste é estável até a data de validade impressa na embalagem. Não congelar o kit ou expor a temperaturas acima de 30°C.

COLETA E MANUSEIO DA AMOSTRA

Considere todos os materiais de origem humana como infecciosos e manipule-os utilizando procedimentos padrão de biossegurança.

Gotas de sangue total podem ser obtidas por qualquer punção da ponta do dedo ou punção venosa. Colete as amostras de sangue em tubo de coleta contendo EDTA, citrato ou heparina. Não use sangue hemolizado para os testes.

Amostras de sangue total devem ser armazenadas em compartimento refrigerado (2-8°C), caso não seja possível testar imediatamente. As amostras devem ser testadas em até 24 horas da coleta.

PROCEDIMENTOS DE ENSAIO

Passo 1: Coloque a amostra e os componentes de teste à temperatura ambiente se refrigerado ou congelado. Quando a amostra é descongelada, homogeneizar bem antes de se realizar o ensaio.

Passo 2: Quando estiver pronto para testar, abra a bolsa no entalhe e remova o dispositivo. Coloque o dispositivo de teste em uma superfície plana e limpa.

Passo 3: Identifique o dispositivo com número de identificação da amostra.

Passo 4: Encher o dispositivo de transferência de sangue (extrator de amostra em formato ilhó, mini conta-gotas de plástico ou tubo capilar) com a amostra de sangue para não exceder a linha da amostra como mostrado nas imagens a seguir. O volume da amostra é de cerca de 5 µL.

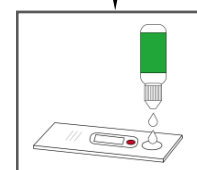
Nota: Pratique algumas vezes antes do teste, se você não estiver familiarizado com o dispositivo de transferência de sangue. Para melhor precisão, transfira a amostra com uma pipeta capaz de fornecer um volume de 5 µL.

Segurando verticalmente o dispositivo de transferência de sangue (extrator de amostra em formato ilhó, mini conta-gotas de plástico ou tubo capilar), distribua a amostra por completo no centro do poço de amostra (**poço S**), certificando-se de que não existam bolhas de ar.

Em seguida, adicione imediatamente 2 gotas de Tampão de Lise Sanguínea (50-100 µL) no centro do poço tampão (**poço B**) com o frasco posicionado verticalmente.



5 µL de amostra de sangue no poço S



2 gotas de tampão de lise sanguínea no poço B

30 minutos

Resultado

Passo 5: Marque o tempo.

Passo 6: Os resultados podem ser lidos aos 30 minutos. Pode demorar mais de 20 minutos para tornar o fundo mais claro. No entanto, os resultados devem ser confirmados ao final dos 30 minutos apenas. **Qualquer resultado interpretado fora de 30 minutos deve ser considerado inválido e deve ser repetido. Descarte o dispositivo usado após interpretar o resultado seguindo as leis locais sobre o descarte de dispositivos.**

CONTROLE DE QUALIDADE

- Controle Interno:** Este teste contém um recurso de controle embutido, a linha C. A linha C se desenvolve após a adição da amostra e do diluente da amostra. Se a linha C não se desenvolver, reveja todo o procedimento e repita o teste com um novo dispositivo.
- Controle Externo:** Boas Práticas de Laboratório recomendam o uso de controles externos positivos e negativos para garantir o bom desempenho do ensaio, especialmente nas seguintes circunstâncias:
 - Um novo operador utilizando o kit, antes de testar as amostras.
 - Um novo lote de kits de teste é utilizado.
 - Uma nova remessa de kits de teste é utilizada.
 - A temperatura durante o armazenamento dos kits estava fora do intervalo de 2-30°C.
 - A temperatura da área de ensaio estava fora do intervalo 15-30°C.
 - Para verificar uma frequência maior do que a esperada de resultados positivos/negativos.
 - Para investigar a causa de repetidos resultados inválidos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO ENSAIO

- RESULTADO NEGATIVO:** Se apenas a linha C está presente, a ausência de qualquer cor vinho em ambas as linhas de teste (Pan e Pf) indica que os antígenos de plasmodium não são detectados. O resultado é negativo ou não-reativo.



2. RESULTADO POSITIVO:

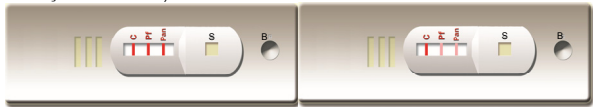
2.1 Além da presença da linha C, se somente a linha Pan se desenvolver, o teste indica a presença do antígeno pLDH. O resultado é Pf negativo ou não reativo, e positivo ou reativo para qualquer das outras três espécies de *Plasmodium* (Pv, Pm e Po) (Tópico **Limitações do Teste 6**).



2.2 Além da presença da linha C, se somente a linha Pf se desenvolver, o teste indica a presença de antígeno pHRP-II. O resultado é Pf positivo ou reativo.



2.3 Além da presença da linha C, se as linhas Pan e Pf se desenvolverem, o teste indica a presença de pHRP-II e pLDH. O resultado é Pf positivo ou reativo. O resultado também pode ser positivo ou reativo para Pf e qualquer das outras três espécies de *Plasmodium* (Po, Pv e Pm) (Tópico **Limitações do Teste 3**).



As amostras com resultados positivos devem ser confirmadas com método (s) alternativo (s) de teste e achados clínicos antes do diagnóstico ser feito.

3. **INVÁLIDO:** Se não se desenvolver uma linha C, o ensaio é inválido independentemente de qualquer cor vinho nas linhas de teste como indicado abaixo. Repita o ensaio com um novo dispositivo.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

1. Desempenho Clínico

Amostras de sangue foram coletadas de uma área endêmica de malária e testadas pelo Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag e por teste de esfregado de sangue espesso. A comparação para todos os sujeitos é mostrada na tabela a seguir:

Teste de Esfregado	Pf		Pan	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Teste Rápido <i>OnSite</i> Malária Pf/Pan Ag	43	280	101	99

Deteção de Pf: Sensibilidade: 100%; Especificidade: 100%;
Deteção Pan: Sensibilidade: 95%; Especificidade: 100%; Valor Kappa: 0,98.

2. Reação Cruzada

Reação cruzada Pv e Pf:

Uma amostra de sangue negativa foi adicionada com Pv-LDH recombinante, Pf-LDH e antígeno pHRP-II e testada com o Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag, respectivamente. Os resultados mostraram que o sistema de deteção de Pv não reagiu de forma cruzada ao antígeno Pf e vice-versa.

Concentração do Antígeno	Reatividade Pf	Reatividade Pan
1,0 mg/mL pHRP-II	Positivo	Negativo
1,0 mg/mL Pv-LDH	Negativo	Positivo
1,0 mg/mL Pf-LDH	Negativo	Positivo

Reação cruzada com antígenos de micróbios comuns:

Uma amostra de sangue negativo foi adicionada com antígenos de micróbios comuns e depois testada de acordo com o procedimento padrão. Os resultados mostraram que o Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag não teve reação cruzada com os seguintes antígenos na concentração testada.

Antígeno (Ag)	Concentração	Reatividade Pf	Reatividade Pan
HIV-1 p24 Ag	1,0 mg/mL	Negativo	Negativo
HBSAg	1,0 mg/mL	Negativo	Negativo
Dengue NS1 Ag (DEN1, 2, 3, 4)	1,0 mg/mL	Negativo	Negativo
vírus Chikungunya Ag	1,0 mg/mL	Negativo	Negativo

Reatividade cruzada com amostras de outras doenças infecciosas:

Não foram observados resultados falsos de teste Pf ou Pan em 8-19 amostras dos seguintes estados patológicos ou condições especiais:

Doença	Antígeno	Resultado	Doença	Antígeno	Resultado
HAV	HBV	HCV	HIV	<i>H. pylori</i>	
Dengue	TB	<i>T. pallidum</i>	ANA	HAMA	
FR (até 2500 IU/mL)					

3. Interferências

Substâncias comuns (tais como medicação para dor, febre e componentes do sangue) podem afetar o desempenho do Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag. Isto foi estudado por adição destas substâncias em três níveis de controles padrão pHRP-II e pLDH. Os resultados demonstram, nas concentrações testadas, que as substâncias estudadas não afetam o desempenho do Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag.

Lista de substâncias potencialmente interferentes e as concentrações testadas:

1. Albumina	60 g/L	5. Glicose	5,5 mmol/L
2. Bilirrubina	20 mg/dL	6. IgG Humana	150 mg/dL
3. Creatinina	442 µmol/L	7. Heparina	3000 U/L
4. EDTA	3,4 µmol/L	8. Ácido salicílico	4,34 mmol/L

LIMITAÇÕES DO TESTE

- O procedimento e a interpretação dos resultados de ensaio devem ser seguidos de perto quando se procura a presença de antígeno plasmodium no sangue total de um indivíduo. O não cumprimento do procedimento pode levar a resultados de testes imprecisos.
- O Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag está limitado à deteção qualitativa do antígeno plasmodium no sangue total. A intensidade da linha de teste não tem correlação linear com o título de antígeno na amostra.
- Caso as linhas Pan e Pf estejam visíveis, interprete o resultado com cautela. A infecção por Pf sozinha ou co-infecção com Pf e qualquer das outras três espécies de plasmodium**

2.1 **deve resultar no desenvolvimento de cor nas linhas Pan e Pf. Assim, quando as linhas Pan e Pf são visíveis, siga os métodos de teste adicionais apropriados para discriminação de espécies de plasmodium presentes na amostra.**

- Um resultado negativo para um indivíduo indica ausência de antígeno de plasmodium detectável. No entanto, um resultado negativo do teste não exclui a possibilidade de exposição ou infecção com plasmodium.
- Um resultado negativo pode ocorrer se a quantidade do antígeno do plasmodium presente na amostra estiver abaixo dos limites de deteção do ensaio, ou se os antígenos detectados não estiverem presentes durante o estágio da doença em que uma amostra é coletada.
- Um resultado positivo para pLDH e negativo para pHRP-II não exclui necessariamente uma infecção por Pf, uma vez que, devido à diversidade genética, alguns isolados de Pf não possuem o gene HRP-II¹⁸.
- Infecção pode progredir rapidamente. Se os sintomas persistirem, mesmo com quando um resultado de Teste Rápido *OnSite* Malária Pf/Pan Ag for negativo ou não reativo, é recomendado testar com métodos alternativos de ensaio.
- Algumas amostras contendo um título excepcionalmente alto de anticorpos heterofílicos ou fator reumatóide podem afetar os resultados esperados.
- Os resultados obtidos com este teste devem ser interpretados em conjunto com outros procedimentos diagnósticos e análises clínicas.

RISCO RESIDUAL

- O profissional de saúde ou usuário adequadamente treinado é responsável por executar ou supervisionar todos os aspectos durante o teste, desde a coleta da amostra até a interpretação do resultado.
- O profissional de saúde ou usuário treinado deve obter consentimento do paciente ao testar a amostra e o mesmo deve fornecer informações sobre as limitações do teste, o risco de resultados falso positivos e falso negativos, especialmente quanto o teste é feito logo após a possível exposição ao patógeno.
- Os resultados devem ser interpretados após a avaliação clínica completa efetuada pelo médico.
- O dispositivo de teste e reagentes não são fabricados na presença de agentes infecciosos ou expostos a agentes infecciosos antes de sua utilização.
- Existe um risco mínimo de contaminação devido ao manuseio incorreto de resíduos infecciosos com risco biológico decorrente do processo de manipulação de amostras de sangue em laboratório.
- Apesar das limitações do teste acredita-se que os benefícios a serem obtidos a partir do uso de teste de triagem de Malária (exemplo: aumento na quantidade de testes) com sensibilidade e especificidade abaixo de 100% superam quaisquer efeitos indesejáveis decorrentes de sua utilização.

GARANTIA DA QUALIDADE

A Bio Advance obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas e em sua embalagem original;
- que o transporte seja realizado em condições adequadas;
- que o produto seja utilizado somente até a data de validade expressa na embalagem;
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser solicitados junto ao SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente, bem como em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, através do telefone (11) 3445-5418 / 2621-7171. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha de fabricação serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

DESCARTE DE PRODUTOS

O descarte de resíduos deve ser realizado pelos geradores de Resíduos de Serviços de Saúde (RSS) em conformidade com os requisitos estabelecidos pelos Órgãos estaduais, municipais e ambientais vigentes, além da Vigilância Sanitária.

REFERÊNCIAS

- 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.
- Guthmann JP, Ruiz A, Priotto G, et al. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2002, 96(3):254-7.
- Kar I, Eapen A, Adak T, Sharma VP. Indian J Malariol. 1998, 35(3):160-2.
- Mills CD, Burgess DC, Taylor TJ, Kain KC. Bull World Health Organ. 1999;77(7):553-9.
- Cloonan N, Fischer K, Cheng Q, Saul A. Mol Biochem Parasitol. 113(2):327-30.
- Gamboia D, Ho M.F., Bendezu J, et al. PLOS One, 2010, 5(1), e8091.
- Koita OA, Doumbo OK, Quattara A, et al. Am J Trop Med Hyg. 2012 Feb;86(2):194-8.

Glossário de Símbolos

	Consulte as Instruções de uso		Somente para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		Validade
	Catálogo		Número de Lote		Testes por kit
	Armazenar entre 2-30°C		Representante Autorizado		Não reutilizar
	Fabricação		Data de Fabricação		

Fabricado por:

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

Instalações do Fabricante:
Beijing Genesee Biotech Inc.,
#36 Yanqi Donger Road, Huairou Yanqi Industrial
Development Zone, Beijing, China, 101407

PI-R0113C-BIO-PT Rev. IP
Data de lançamento: 01-02-2019
Versão Língua Portuguesa

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

Apenas para exportação, Revenda proibida nos EUA

Importado e Distribuído por:

Bio Advance
Diagnósticos

Bio Advance Diagnósticos Ltda - EPP
CNPJ 09.593.438/0001-03
Rua: Anísio de Abreu, 236 - Parque Cisper
CEP: 03817-020 - São Paulo/SP

POTENCIALMENTE INFECTANTE
CONSERVAR A TEMPERATURA 2°C A 30°C

[SERVIR DE ATENDIMENTO AO CLIENTE]
TELEFONE: 55 11 - 3445-5418 / 2621-7171
www.bioadvancediag.com.br

contato@bioadvancediag.com.br
Registro Anvisa: M.S. 80524900059

Resp. Téc. Dr. Arnaldo Casé de Castro
CRF/SP: 34.453