

QBC[®] Malaria Test



4277-112-350

Rev B

English:	pages	1 – 6	Deutsch:	Seiten	18 – 24
Français:	pages	6 – 12	Italiano:	pagine	24 – 29
Español:	páginas	12 – 18	Portuguese:	pages	30 – 35

See symbol glossary at end of insert. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto.

INTENDED USE

The **QBC[®]** Malaria Test is a qualitative screening method for rapidly detecting the presence of malaria in centrifuged capillary or venous blood.

SUMMARY AND EXPLANATION

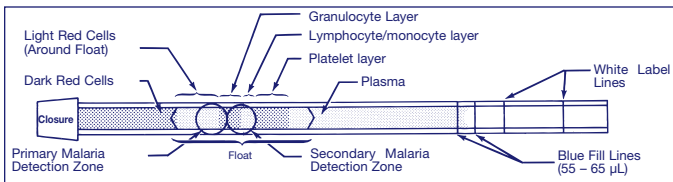
Throughout much of the world, the diagnosis of many blood parasites is generally established by microscopic examination of stained blood films. Direct observation of centrifuged blood in specially coated **QBC** tubes now permits field detection of malaria parasites in a 10 sec to 3 min examination of parasite-infected blood. Parasite diagnosis by the **QBC** method is more sensitive than conventional blood-film microscopy due, in part, to the comparatively larger volume of blood screened for parasitic infection.¹ The **QBC** method additionally concentrates most of the parasites into the narrow zone of the blood tubes that is optically examined. Components of the **QBC** Malaria Test require no controlled test environment or refrigeration facilities. Centrifuged **QBC** Malaria Test tubes are examined under a fluorescence microscope, or a light microscope using a **QBC ParaLens Advance[™]** LED fluorescence microscope attachment.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

QBC centrifugal hematology analysis utilizes density gradient layering of stained blood cells, together with mechanical expansion of the microhematocrit buffy coat. A natural extension of this **QBC** technology is provided by the less dense, parasite-infected cells concentrated within the separated red cell and white cell layers of the spun **QBC** tube. **QBC** Malaria Test tubes are internally coated with acridine orange stain and anticoagulants. The use of acridine orange dye to visualize malaria parasites has been shown to have advantages.¹⁰ Expansion of the centrifugally separated cell layers is achieved with a plastic float, inserted into the tube after filling with capillary or venous blood and sealing with a plastic closure. Separated, expanded layers, clearly identifiable in the spun tube, are dark and light red cells, granulocytes, lymphocytes-monocytes, and platelets, as illustrated below. Examination under a fluorescence microscope of the interface region between the light red cells and granulocytes (where the parasites are characteristically most abundant^{2,3}) permits rapid and unambiguous detection of the distinctively stained malaria organisms.

REAGENTS

Each **QBC** Malaria Test tube is internally coated with Acridine Orange, Potassium Oxalate, Sodium Heparin and K₂EDTA.



WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *in vitro* Diagnostic Use.

- Malaria Tubes can be used with capillary blood collected from the finger or heel, or with venous blood.
- Always wear protective laboratory gloves when collecting and handling blood.

CAUTION

BLOOD SPECIMENS MAY CONTAIN THE HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV), HEPATITIS B VIRUS OR OTHER INFECTIOUS AGENTS. HANDLE BLOOD AS A POTENTIAL BIOHAZARD, CAPABLE OF TRANSMITTING INFECTION.

STABILITY AND STORAGE OF QBC TUBES

QBC Tubes may be used for malaria testing up to the expiration date stamped on the package label. Store the Tubes at 16°C to 37°C (60° to 99°F), away from heat and direct sunlight. Do NOT expose tubes to sunlight or overhead light for extended periods since the coating of acridine orange stains may deteriorate.

BLOOD COLLECTION

For malaria diagnosis, use blood from a finger or heel puncture, or a freshly-collected venous specimen. Observe the following general precautions:

- Be sure to clean the skin area thoroughly with antiseptic agent and dry with a sterile wiper.
- For capillary blood, puncture the skin with a sterile lancet. Collect 55 to 65 µL of blood directly into the **QBC** Tube as described under TEST PROCEDURES.
- For venous blood, draw the specimen with a sterile syringe or evacuated collection device. See TEST PROCEDURES for filling the **QBC** Tube.

CAUTION

TO PREVENT TRANSMITTING INFECTION, BE SURE THAT ALL BLOOD COLLECTION MATERIALS ARE THOROUGHLY STERILIZED BEFORE USE.

Anticoagulants: **QBC** Malaria Tubes are internally pre-coated with sodium heparin and dipotassium EDTA.

Interfering Substances: Leukocyte nuclei or the presence of multiple artifacts in blood do not appear to confuse or mask the detection of parasites by the **QBC** method.

Stability of Blood-Filled Tubes: Blood-filled **QBC** Malaria Tubes should be centrifuged promptly after preparation (see TEST PROCEDURES). After centrifugation, tubes can be held for as long as 3 days unrefrigerated, at temperatures up to 37°C (99°F), before microscopic examination. During storage, tubes must be kept upright, with the

closure end down. Tubes refrigerated at 4°C (39°F) can be held for up to two weeks prior to examination.

TEST PROCEDURES

Materials Provided: Malaria Tubes, Floats, Closures, Package Insert, Pressure-Sensitive Tube Labels for patient identification, QBC holographic stickers.

Materials Required But Not Provided:

- Sterile Lancets
- Forceps
- Sterile Wipes
- Fluorescence Optical Immersion Oil
- **QBC Capillary Centrifuge**
- **QBC Work Station**
- **ParaViewer** tube holder, and
- **ParaLens Advance™** LED fluorescence microscope attachment, with 60x objective, and compound light microscope with 10x High Point, Wide-Field Eye Piece(s), or
- Standard Fluorescence Microscope, equipped with FITC filter cluster and 50x or 60x oil objective lens with working distance greater than 0.32 mm.

BLOOD TUBE PREPARATION AND TEST PROCEDURES

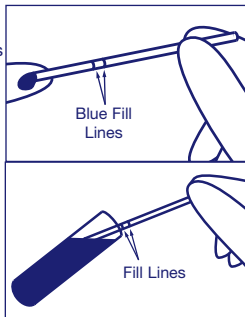
Each **QBC** test requires 55 µL to 65 µL of blood from a finger or heel puncture or from a freshly collected venous sample. Tube preparation and test procedures are described below.

CAUTION: Wear protective gloves when collecting and handling blood to avoid the transmission of disease.

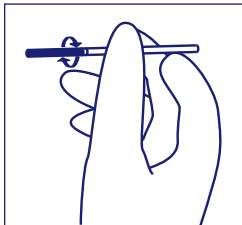
PREPARE AND CENTRIFUGE BLOOD TUBE

1. Fill the **QBC** Malaria Tube, from end nearest the two blue lines, directly from a finger (or heel) puncture or a collection tube of well-mixed venous blood. Fill the tube by capillary action to a level between the two blue lines.

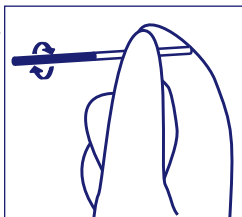
With lint-free tissue, wipe off any blood on the outside of the tube.



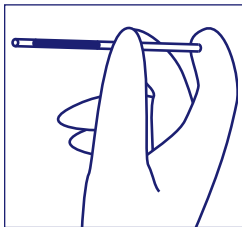
2. KEEP THE TUBE NEARLY HORIZONTAL and roll between the fingers several times to mix the blood with the anticoagulant coating.



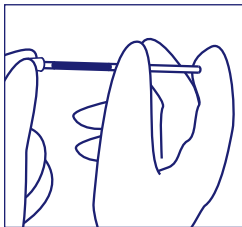
3. TURN THE TUBE AROUND AND TILT, allowing the blood to flow to the end with the orange-coated stain. Roll the tube between the fingers 5 times to mix the blood with the staining agent.



4. TILT THE TUBE SLIGHTLY so that blood flows away from the orange-coated end by at least 1/4" (6 mm) to allow space for installing the closure; then place the index finger over the end of the tube nearest the blue fill lines.



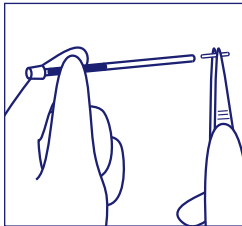
5. PRESS A PLASTIC CLOSURE onto the unsealed end of the tube. Then manually twist and press the closure to form a tight seal.



CAUTION

DO NOT FORCE THE CLOSURE ONTO THE TUBE. TUBES ARE MADE OF GLASS AND MAY BREAK.

6. WITH A CLEAN FORCEPS, PICK UP A FLOAT and insert it into the unsealed end of the tube. Tap with the forceps until the float is inside the tube.



7. For identification purposes, record the patient number on a pressure-sensitive label supplied in the Kit. Then wrap the short end of the label tightly around the tube, being careful to position the label **between the two white lines on the tube**.
- Note:** Prepare other tubes for centrifugation, as required. Up to **20 tubes** can be centrifuged at one time.
8. PLACE THE TUBES into slots of the centrifuge rotor. TUBES MUST BE PLACED SO THAT THE ROTOR IS BALANCED. Install the rotor cover: then close and latch the lid. Start the centrifuge.
9. AFTER 5 MIN CENTRIFUGATION and when the rotor has stopped, remove the tubes from the centrifuge. Store the tubes vertically, closure end down, in the rack.

IMPORTANT: After centrifugation, QBC Malaria Tubes can be stored up to 3 days at 16°C to 37°C (60°F to 99°F) before microscopic examination for parasites; or tubes can be refrigerated at 4°C (39°F) for up to two weeks before examination.

MICROSCOPIC EXAMINATION FOR MALARIA

Using a fluorescence microscope or a light microscope fitted with a **ParaLens Advance** and a **ParaViewer** tube holder:

1. Insert the centrifuged **QBC Tube** into the groove of the **ParaViewer**. Position the Tube so that the sealed end extends over the depressed area of the holder.
2. Place the **ParaViewer** with **QBC Tube** on the stage of the microscope. Use a 10x, wide-field, high-point eyepiece(s) and a 50x to 60x objective lens with a minimum working distance of 0.34 mm. Add 2 – 3 drops of fluorescence optical immersion oil. Bring the buffy coat area of the Tube into focus.
3. Move the microscope stage until the top of the expanded RBC layer (near the RBC-Granulocyte interface) is in the field of view.
4. Examine the entire circumference of the tube by rotating the tube as it rests in the **ParaViewer**.
5. Examine the area from the RBC-Granulocyte interface towards the closure to a distance of 10 to 15 fields.
6. Look for schizonts and gametocytes of *Plasmodia* at the Granulocyte- Lymphocyte/ Monocyte interface for a maximum of 10 fields.
7. Total examination time to exclude a negative is approximately 2 min.

The presence of malaria parasites is indicated by the distinct bi-colored signet ring forms of trophozoites strikingly apparent in cells near the granulocyte layer. A central area, where the “stone” of the signet ring would be located will be **green**; the ring portion will be **green to red**.

Gametocytes of *P. falciparum* will appear as yellow sickle-shaped bodies. Schizonts of *P. vivax* can be recognized by the presence of malaria pigment which appears as a dark brown color.

Developing merozoites in mature schizonts will often be seen very clearly surrounding the dark brown pigment.

QBC HOLOGRAPHIC STICKER

Attach **QBC** holographic sticker to all reports of the malaria tests performed using the **QBC** Malaria Test. Note: The use of the **QBC** holographic sticker ensures the test reviewer that the test was performed using authentic **QBC** technology.

TEST LIMITATIONS

The **QBC** Malaria Test is a qualitative method for diagnosing “positive” or “negative” patients. While numerous reports have demonstrated that the **QBC** test is significantly more sensitive for detecting malaria than stained blood films,^{1,4-8} **QBC** may not detect very low levels of parasitemia. Experienced microscopists can discriminate between various species of malaria parasites using the **QBC** test.^{1,4,9} Examination of a thin blood smear may be required to differentiate species in some cases.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The **QBC** (quantitative buffy coat) technique was compared to the Giemsa-stained thick blood film (GTF) under field conditions. Three hundred sixty-four (364) blood samples were collected and each was tested with both **QBC** and GTF techniques. The GTF technique indicated 86 positive blood samples and 278 negative samples. The **QBC** technique indicated 89 positive samples and 275 negative samples. Relative to the results obtained with GTF, the **QBC** technique had a sensitivity of 87.2% and a specificity of 95.0%; concordance between the tests was 93.1%.

REFERENCES: See page 36.

QBC Malaria Test

Français

APPLICATIONS

Le test paludéen **QBC** est une méthode qualitative pour la détection rapide de parasites du paludisme dans le sang veineux ou capillaire centrifugé.

RESUME ET EXPLICATION

A travers le monde, le diagnostic de nombreux parasites du sang est en général établi à partir de l'examen microscopique de films sanguins colorés. L'observation directe de sang centrifugé dans des tubes **QBC** à revêtement spécial permet désormais la détection sur le terrain des parasites du paludisme grâce à un examen durant 10 sec à 3 min de sang infecté par les parasites. Le diagnostic de parasite par la méthode **QBC** est plus sensible que l'examen microscopique du film sanguin du fait entre autres du volume de sang relativement plus important examiné à la recherche du parasite.¹ La méthode **QBC** concentre de plus la plupart des parasites dans une bande étroite des tubes de sang qui est examinée optiquement. Les composants du test paludéen **QBC** ne demandent ni environnement contrôlé pour le test ni possibilités de réfrigération.

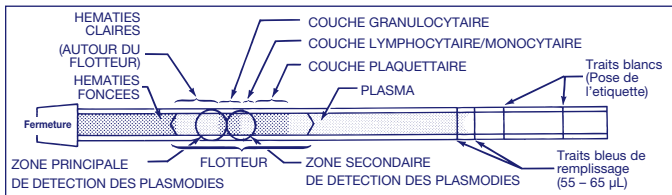
Les tubes centrifugés pour le test paludéen QBC sont examinés au microscope à fluorescence ou au microscope photonique équipé de l'accessoire QBC ParaLens Advance™ pour une microscopie à fluorescence par DEL.

PRINCIPES DE LA METHODE

L'analyse hématologique **QBC** par centrifugation utilise la sédimentation en fonction de la densité des cellules sanguines colorées associée à l'expansion mécanique de la couche leuco-plaquettaire du microhématocrite. Une extension naturelle de la technologie **QBC** est offerte par les cellules infectées par les parasites qui se concentrent entre la couche des globules rouges et celle des globules blancs dans un tube **QBC** centrifugé. Les tubes pour test paludéen **QBC** sont revêtus intérieurement du colorant d'orangé d'acridine et d'anticoagulants. Il a été montré que l'emploi de l'orangé d'acridine pour visualiser les parasites du paludisme présentait plusieurs avantages.¹⁰ L'expansion des couches résultant de la centrifugation est accomplie par un flotteur en plastique qui est inséré dans le tube après le remplissage avec le sang capillaire ou veineux et la fermeture hermétique avec une fermeture en plastique. Les couches séparées, expansées, clairement identifiables dans le tube centrifugé sont les globules rouges foncés et clairs, les granulocytes, les lymphocytes-monocytes et les plaquettes comme illustré ci-dessous. L'examen en microscopie à fluorescence de l'interface entre les globules rouges clairs et les granulocytes (où les parasites sont généralement les plus abondants^{2,3}) permet la détection rapide et sans ambiguïté des organismes paludéens colorés de façon distincte.

REACTIFS

Chaque tube **QBC** pour la détection du paludisme comporte un revêtement intérieur composé d'orangé d'acridine, d'oxalate de potassium, d'héparine sodique et d'EDTA bipotassique.



MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS

Réservé au Diagnostic *in vitro*.

- On peut remplir les tubes pour la détection du paludisme, soit de sang capillaire prélevé au doigt ou au talon, soit de sang veineux.
- Le port de gants de protection de techniciens de laboratoire est indispensable à tout moment lors du prélèvement et de la manipulation de sang.

ATTENTION

LES ECHANTILLONS DE SANG PEUVENT CONTENIR LE VIRUS DU SIDA (VIH), CELUI DE L'HEPATITE B, OU D'AUTRES AGENTS INFECTIEUX. MANIPULER TOUS LES ECHANTILLONS DE SANG COMME PRESENTANT UN RISQUE POTENTIEL DE TRANSMISSION D'UNE MALADIE.

STABILITE ET CONSERVATION DES TUBES QBC

Les tubes **QBC** peuvent être utilisés pour des tests paludéens jusqu'à la date de péremption marquée à l'aide d'un tampon sur l'étiquette du conditionnement label. Conserver les tubes 16 °C – 37 °C, loin de toute source de chaleur et de la lumière directe du soleil. NE PAS exposer les tubes pendant des périodes prolongées à la lumière solaire ni à un éclairage vertical, ce qui pourrait provoquer la détérioration du revêtement au colorant orangé d'acridine.

PRELEVEMENTS SANGUINS

Pour le diagnostic du paludisme, employer soit du sang prélevé par ponction du doigt ou du talon, soit un échantillon fraîchement prélevé de sang veineux. Observer les précautions générales suivantes :

- Ne pas omettre de nettoyer soigneusement avec un antiseptique la région cutanée intéressée, puis la sécher avec un tampon stérile.
- Pour le recueil du sang capillaire, ponctionner la peau à l'aide d'une lancette stérile. Prélever de 55 à 65 µL de sang directement dans le tube **QBC** ainsi qu'il est indiqué dans MODE OPERATOIRE.
- Pour le sang veineux, prélever l'échantillon avec une seringue stérile ou en effectuant un prélèvement sous vide. Pour le remplissage du tube **QBC**, voir MODE OPERATOIRE.

ATTENTION

POUR EVITER LA TRANSMISSION D'INFECTIONS, ON DOIT S'ASSURER QUE TOUS LES MATERIELS DE PRELEVEMENT SANGUIN ONT FAIT L'OBJET D'UNE STERILISATION RIGOUREUSE AVANT LEUR USAGE.

Anticoagulants : les tubes **QBC** pour la recherche du paludisme sont revêtus intérieurement d'héparine sodique et d'EDTA dipotassique par le fabricant.

Substances interférantes : la présence de noyaux leucocytaires ou d'artéfacts multiples dans le sang ne semble pas gêner ni masquer la détection des parasites du paludisme par la méthode **QBC**.

Stabilité des tubes remplis de sang : les tubes paludéens **QBC** remplis de sang doivent être centrifugés sans délai après leur préparation (cf. MODE OPERATOIRE). Après la centrifugation, les tubes peuvent être conservés jusqu'à 3 jours sans réfrigération à des températures pouvant atteindre 37 °C, avant leur examen microscopique. Pendant la conservation, les tubes doivent être maintenus en position verticale avec l'extrémité bouchée vers le bas. Les tubes gardés au réfrigérateur à 4 °C peuvent être conservés jusqu'à 2 semaines avant leur examen.

MODE OPERATOIRE

Matériel fourni: Tubes pour test paludéen, flotteurs, fermetures, notice d'emballage, étiquettes sensibles à la pression pour identifier les patients sur les tubes, vignettes holographiques QBC.

Matériels requis mais non fournis :

- Lancettes stériles
- Pincés
- Tampons stériles
- Huile à immersion pour optique à fluorescence
- **Centrifugeuse capillaire QBC**
- **Station de travail QBC**
- Porte-tubes **ParaViewer** et
- Accessoire **ParaLens Advance™** pour une microscopie à fluorescence par DEL, avec un objectif x60, et un microscope photonique avec oculaire(s) x10 à champ large et à anneau oculaire haut placé, ou
- Microscope à fluorescence standard, équipé d'un ensemble de filtres FITC et d'un objectif à immersion dans l'huile x50 ou x60 avec une distance frontale supérieure à 0,32 mm

PREPARATION DU TUBE DE SANG ET MODE OPERATOIRE

Chaque test **QBC** nécessite 55 μ L à 65 μ L de sang recueilli par ponction au bout du doigt ou au talon, ou fraîchement prélevé par ponction veineuse. La préparation des tubes et le mode opératoire sont décrits ci-dessous.

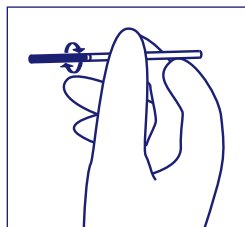
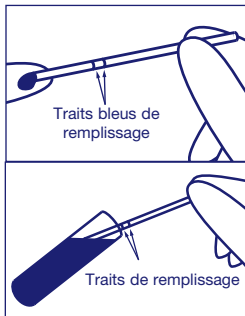
ATTENTION : il est indispensable de porter des gants protecteurs lors du recueil et de la manipulation du sang.

PREPARATION ET CENTRIFUGATION DU TUBE DE SANG

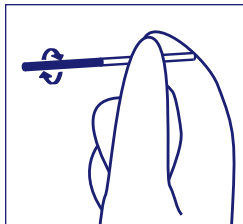
1. Remplir le tube paludeen **QBC** par l'extrémité la plus proche des deux traits bleus directement à partir d'une ponction faite au doigt (ou au talon) ou d'un tube de recueil contenant du sang veineux bien mélangé. Remplir le tube par action capillaire jusqu'à un niveau situé entre les deux traits bleus.

Avec une serviette sans peluches, essuyer le sang qui aurait coulé le long de la paroi extérieure du tube.

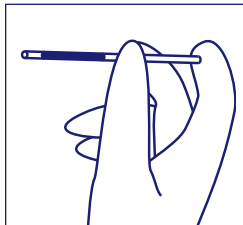
2. EN TENANT LE TUBE PRESQUE HORIZONTALEMENT, le rouler entre les doigts à plusieurs reprises pour permettre au sang de se mélanger avec le revêtement anticoagulant.



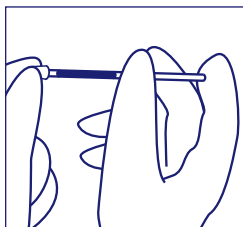
3. **TOURNER LE TUBE DANS L'AUTRE SENS ET L'INCLINER**, de sorte que le sang s'écoule vers l'extrémité revêtue de colorant orangé. Rouler le tube 5 fois entre les doigts pour que le sang se mélange avec le colorant.



4. **INCLINER LÉGEREMENT LE TUBE** pour que le sang s'écoule sur une distance d'au moins 6 mm dans le sens opposé au revêtement orangé afin de laisser suffisamment de place pour le bouchage du tube ; ensuite, placer l'index sur l'extrémité du tube la plus proche des traits bleus de remplissage.



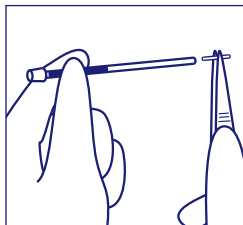
5. **BOUCHER À L'AIDE D'UNE FERMETURE EN PLASTIQUE MISE** à l'extrémité non bouchée du tube. Puis, tourner et enfoncer le bouchon à la main pour assurer une fermeture étanche.



ATTENTION

NE PAS FORCER LA FERMETURE SUR LE TUBE. LE TUBE EST EN VERRE ET RISQUE DE CASSER.

6. **AVEC UNE PINCE PROPRE, SAISIR UN FLOTTEUR** et l'insérer par l'extrémité non bouchée du tube. Frapper avec la pince pour faire pénétrer le flotteur à l'intérieur du tube.



7. Pour l'identification de l'échantillon, inscrire le numéro du malade sur une étiquette autocollante fournie dans le coffret paludologique. Puis, appliquer fermement l'étiquette en l'enroulant par son côté court autour du tube et en prenant soin de placer l'étiquette **entre les deux traits blancs marqués sur le tube**.

Remarque : préparer maintenant les autres tubes à centrifuger selon les besoins. Il est possible de centrifuger simultanément jusqu'à 20 tubes.

8. **PLACER LES TUBES** dans les rainures du rotor du centrifugeur. **ON DOIT DISPOSER LES TUBES DE SORTE QUE LE ROTOR SOIT EQUILIBRE**. Mettre le couvercle du rotor, le fermer et verrouiller. Mettre le centrifugeur en marche.
9. **APRES 5 MIN DE CENTRIFUGATION**, une fois que le rotor s'est arrêté, sortir les tubes du centrifugeur. Ranger les tubes verticalement sur le portoir avec leur extrémité bouchée dirigée vers le bas.

N.B. : après leur centrifugation, les tubes paludéens QBC peuvent être conservés pendant un maximum de 3 jours à une température de 16 °C à 37 °C avant la recherche microscopique des parasites du paludisme. Les tubes peuvent être conservés jusqu'à 2 semaines au réfrigérateur à 4 °C avant leur examen.

EXAMEN MICROSCOPIQUE

Sur un microscope à fluorescence ou un microscope photonique muni d'un adaptateur **ParaLens Advance** et d'un porte-tube **ParaViewer** pour examen visuel.

1. Adapter le tube **QBC** centrifugé dans la rainure du **ParaViewer**. Placer le tube de sorte que l'extrémité bouchée dépasse la zone abaissée du porte-tube.
2. Poser le **ParaViewer** avec son tube paludologique **QBC** sur la platine du microscope. Choisir un oculaire ou des oculaires x10 à champ large et à anneau oculaire haut placé ainsi qu'un objectif x50 à x60 à une distance frontale d'au moins 0,34 mm, et ajouter 2 ou 3 gouttes d'huile à immersion d'optique à fluorescence. Effectuer la mise au point sur la région du tube occupée par la couche leucocytaire.
3. Déplacer la platine du microscope de sorte que la partie supérieure de la couche érythrocytaire expansée (à proximité de l'interface érythro-granulocytaire) se trouve dans le champ visuel.
4. Examiner le tube sur toute sa circonférence en imprimant un mouvement de rotation à ce dernier alors qu'il repose dans le **ParaViewer**.
5. Examiner la zone depuis l'interface hématies-granulocytes vers la fermeture sur une distance de 10 à 15 champs.
6. Rechercher les schizontes et les gamétocytes de *Plasmodia* à l'interface granulocytaire-lymphocytaire/monocytaire sur un maximum de 10 champs.
7. Le temps total de l'examen pour exclure un résultat négatif est d'environ 2 min.

La présence des hématozoaires est indiquée par l'aspect particulier en bague bicolore des trophozoïtes, qui apparaît nettement dans les cellules situées à proximité de la couche granulocytaire. La zone centrale (qui correspondrait au « chaton » de la bague) sera de couleur **verte** ; la partie correspondant à l'anneau sera de couleur **verte à rouge**.

Les gamétocytes de *P. falciparum* se présenteront comme des corps jaunes falciformes. Les schizontes de *P. vivax* se signaleront par la présence de pigment paludéen de couleur brun foncé. Les mérozoïtes en cours de développement dans les schizontes évolués sont très souvent nettement visibles autour du pigment brun foncé.

VIGNETTE HOLOGRAPHIQUE QBC

Coller une vignette holographique **QBC** sur tous les rapports des tests paludéens effectués à l'aide du test paludéen **QBC**. Remarque: L'utilisation de la vignette holographique **QBC** garantit au réviseur du test que celui-ci a été effectué en utilisant la technologie authentique **QBC**.

LIMITES DU TEST

Le test paludologique **QBC** est une méthode qualitative de diagnostic des sujets « positifs » ou « négatifs ». De nombreux rapports ont prouvé que la sensibilité du test paludéen **QBC** est significativement supérieure à celle des frottis de sang avec coloration pour la détection du paludisme.^{1,4-8} Cependant, la détection de concentrations très faibles de cellules infectées peut échapper au test **QBC**. Les opérateurs expérimentés peuvent distinguer entre différentes espèces de parasites paludéens grâce au test **QBC**.^{1,4,9} Or, dans certains cas, il peut être nécessaire d'avoir recours à un frottis mince pour établir la différence entre les espèces.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

La technique **QBC** (quantitative buffy coat) a été comparée à la technique GTF (Giemsa-stained thick blood film) en conditions réelles d'utilisation. 364 échantillons sanguins ont été prélevés et analysés avec les techniques **QBC** et GTF. La technique GTF a diagnostiqué 86 échantillons positifs et 278 échantillons négatifs. La technique **QBC** a diagnostiqué 89 échantillons positifs et 275 échantillons négatifs. Par rapport aux résultats obtenus avec la technique GTF, la technique **QBC** présentait une sensibilité de 87,2 % et une spécificité de 95,0 % ; la concordance entre les tests était de 93,1 %.

BIBLIOGRAPHIE : Voir la rubrique « References » page 36.

QBC Malaria Test

Español

USO PREVISTO

El Sistema **QBC** para el Diagnóstico del Paludismo es un método cualitativo de selección para detectar rápidamente la presencia de parásitos causantes del paludismo en sangre capilar o venosa centrifugada.

RESUMEN Y EXPLICACION

En la mayor parte del mundo, el diagnóstico de los parásitos en la sangre se hace generalmente mediante examen microscópico de frotis de sangre. La observación directa de sangre centrifugada en tubos especiales **QBC** permite ahora detectar el parásito del paludismo, y toma entre 10 sec a 3 min examinar la sangre infectada. El diagnóstico de la presencia de parásitos utilizando el método **QBC** es mucho más sensitivo que la microscopía convencional de frotis de sangre. Esto se debe, en parte, al volumen relativamente mayor utilizado para detectar la infección de parásitos.¹ El método **QBC** también concentra la mayoría de los parásitos en la zona estrecha de los tubos de sangre que es examinada ópticamente. Los componentes de la prueba de paludismo **QBC** no requieren un ambiente de prueba controlado ni necesitan refrigerarse. Para el análisis de los tubos **QBC** centrifugados para las pruebas de

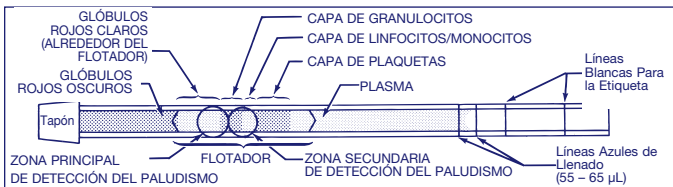
paludismo se utiliza un microscopio de fluorescencia o un microscopio óptico que incorpore un indicador LED de fluorescencia **QBC ParaLens Advance™**.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El análisis hematológico mediante centrifugación **QBC** estratifica las células de sangre de acuerdo a su densidad a la vez que expande mecánicamente la capa leucocitaria de microhematocritos. Como consecuencia natural de esta tecnología **QBC**, las células infectadas por parásitos, al ser menos densas, se concentran entre las capas de células rojas y blancas en el tubo **QBC** centrifugado. Los tubos de la prueba de paludismo **QBC** están cubiertos por dentro de colorante naranja de acridina y anticoagulantes. Se ha demostrado que el uso del colorante naranja de acridina para visualizar los parásitos de paludismo tiene ciertas ventajas.¹⁰ Se consigue la expansión de las capas separadas por centrifugación mediante un flotador de plástico, introducido al tubo luego de llenar el mismo de sangre capilar o venosa y sellarlo con una tapa plástica. Las capas separadas y expandidas, identificadas claramente en la mesa giratoria, son células color rojo oscuro y rojo claro, granulocitos, linfocitos - monocitos y plaquetas, según se ilustra abajo. El examen bajo un microscopio de fluorescencia de la región intermedia entre las células color rojo claro y los granulocitos (donde los parásitos son característicamente más abundantes^{2,3}) permite la detección rápida y segura de los particularmente teñidos organismos que causan el paludismo.

REACTIVOS

El interior de cada tubo **QBC** para la detección del paludismo está revestido con naranja de acridina, oxalato potásico, heparina sódica y K_2EDTA .



ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para Uso Diagnóstico *in vitro*.

- Los tubos para la detección del paludismo pueden usarse con sangre capilar extraída del dedo o el talón, o bien con sangre venosa.
- Siempre lleve guantes protectores de laboratorio al extraer y manipular sangre.

PRECAUCION

LAS MUESTRAS DE SANGRE PUEDEN CONTENER EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH), EL DE LA HEPATITIS B U OTROS AGENTES INFECCIOSOS. MANIPULE LA SANGRE COMO PELIGRO BIOLÓGICO POTENCIALMENTE CAPAZ DE TRANSMITIR INFECCIONES.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DE LOS TUBOS QBC

Los tubos **QBC** pueden emplearse para realizar pruebas del paludismo hasta la fecha de expiración que aparece impresa en la etiqueta de la caja. Almacene los tubos a una temperatura de 16 °C a 37 °C, lejos de fuentes de calor y de la luz solar directa. NO

exponga los tubos a la luz solar o artificial durante periodos prolongados, ya que el revestimiento de colorante naranja de acridina puede deteriorarse.

TOMA DE SANGRE

Para diagnosticar el paludismo, utilice sangre extraída mediante punción de un dedo o talón, o sangre venosa fresca. Proceda con las siguientes precauciones generales:

- Asegúrese de limpiar bien la piel con un agente antiséptico y secarla con gasa estéril.
- Para sangre capilar, realice la punción de la piel con la lanceta estéril. Extraiga de 55 a 65 µL de sangre directamente en el tubo **QBC**, tal como se describe en los PROCEDIMIENTOS DE LA PRUEBA.
- Para sangre venosa, extraiga la muestra con una jeringa estéril o dispositivo de extracción al vacío. Vea los PROCEDIMIENTOS DE LA PRUEBA para el llenado del tubo **QBC**.

PRECAUCION

PARA EVITAR LA TRANSMISIÓN DE INFECCIONES, ASEGURESE DE QUE TODOS LOS MATERIALES EMPLEADOS PARA LA TOMA DE SANGRE ESTAN COMPLETAMENTE ESTERILIZADOS ANTES DE USARLOS.

Anticoagulantes: El interior de los tubos **QBC** para la detección del paludismo ha sido previamente revestido con heparina sódica y EDTA dipotásico.

Substancias que interfieren: Los núcleos de leucocitos o la presencia de artefactos múltiples en la sangre no parece confundir ni impedir la detección de parásitos de paludismo con el método **QBC**.

Estabilidad de los tubos llenos de sangre: Los tubos **QBC** para paludismo llenos de sangre deben ser centrifugados inmediatamente después de su preparación (vea PROCEDIMIENTOS DE LA PRUEBA). Después de su centrifugación, los tubos pueden mantenerse hasta 3 días sin refrigeración, a temperaturas de hasta 37 °C, antes de su examen microscópico. Durante el almacenamiento, los tubos deberán mantenerse en posición vertical con el extremo del tapón hacia abajo. Los tubos pueden refrigerarse a una temperatura de 4 °C por un máximo de 2 semanas antes de su examen.

PROCEDIMIENTOS DE LA PRUEBA

Materiales suministrados: Tubos para las pruebas de paludismo, flotadores, tapones, prospecto, etiquetas de tubos autoadhesivos para la identificación de pacientes y hologramas adhesivos QBC.

Materiales necesarios pero no suministrados:

- Lancetas estériles.
- Pinzas.
- Gasas estériles.
- Aceite de inmersión para microscopía óptica de fluorescencia.
- **Centrífuga capilar QBC.**
- **Estación de trabajo QBC.**
- Portatubos **ParaViewer**.
- Indicador LED de fluorescencia para microscopio **ParaLens Advance™** con objetivo de 60x y microscopio óptico compuesto con amplificación máxima de 10x y ocular de campo amplio o
- microscopio de fluorescencia estándar, provisto de filtros para FITC y objetivos de inmersión de aceite de 50x o 60x con una distancia de trabajo mínima de 0,32 mm.

PREPARACION DEL TUBO DE SANGRE Y PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Cada prueba **QBC** para el diagnóstico del paludismo requiere de 55 μ L a 65 μ L de sangre extraída mediante la punción de un dedo o talón o de una muestra recién tomada de sangre venosa. A continuación se describen los procedimientos para la preparación del tubo y para realizar la prueba.

PRECAUCION: Use guantes protectores al extraer y manipular sangre para evitar la transmisión de enfermedades.

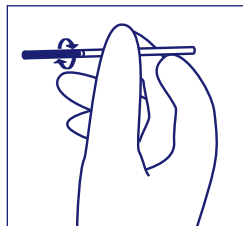
PREPARE Y CENTRIFUGUE EL TUBO DE SANGRE

1. Llene el tubo **QBC** para el diagnóstico del paludismo, desde el extremo más cercano a las dos líneas azules, directamente de la punción del dedo (o talón) o de un tubo de sangre venosa recién tomada bien mezclada. Llene el tubo por acción capilar a un nivel que permanezca entre las dos líneas azules.

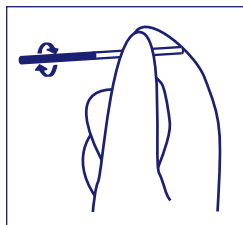
Limpie la sangre que haya quedado fuera del tubo con un paño o papel que no deje pelusa.



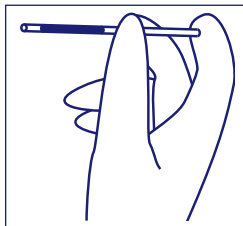
2. MANTENGA EL TUBO EN POSICION CASI HORIZONTAL y gírelo entre los dedos varias veces para mezclar la sangre con la capa de anticoagulante.



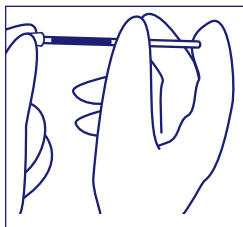
3. DELE VUELTA AL TUBO E INCLINELO de modo que la sangre fluya al extremo revestido con colorante naranja. Gire el tubo entre los dedos



cinco veces para mezclar la sangre con el agente colorante.



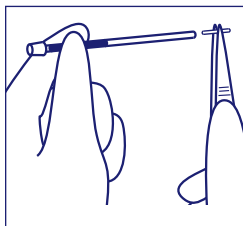
4. **INCLINE LEVEMENTE EL TUBO** para retirar la sangre del extremo con el colorante naranja por lo menos 6 mm, de modo que haya espacio para instalar el tapón: luego coloque su dedo índice sobre el extremo del tubo más próximo a las líneas azules de llenado.



5. **PRESIONE UN TAPON DE PLASTICO** en el extremo abierto del tubo. Luego gire y presione manualmente el tapón para cerrar el tubo herméticamente.

PRECAUCION

NO ENTRE EL TAPON A LA FUERZA EN EL TUBO. LOS TUBOS SON DE VIDRIO Y PUEDEN ROMPERSE.



6. **CON UNAS PINZAS LIMPIAS, TOMA UN FLOTADOR** e insértelo en el extremo abierto del tubo. Empújelo suavemente con las pinzas hasta que el flotador se encuentre dentro del tubo.

7. Para fines de identificación, registre el número del paciente en una de las etiquetas adhesivas que vienen con el equipo. A continuación envuelva firmemente el extremo corto de la etiqueta alrededor del tubo, teniendo cuidado de colocarla **entre las dos líneas blancas del tubo.**

Nota: Prepare otros tubos para su centrifugación, según sea necesario. Pueden centrifugarse hasta **20 tubos** al mismo tiempo.

8. COLOQUE LOS TUBOS en las ranuras del rotor de la centrífuga. ESTOS DEBEN COLOCARSE DE MODO QUE EL ROTOR ESTE EQUILIBRADO. Instale la tapa del rotor; luego cierre y asegure la tapa. Active la centrífuga.
9. UNA VEZ TRANSCURRIDOS 5 MIN DE CENTRIFUGACION y cuando el rotor haya parado, retire los tubos de la centrífuga. Almacénelos verticalmente, con el tapón hacia abajo, en el soporte de los tubos.

IMPORTANTE: Después de su centrifugación, los tubos QBC para la detección del paludismo pueden ser almacenados hasta un máximo de 3 días a una temperatura de 16° C a 37° C antes de su examen microscópico para identificar parásitos de paludismo; o antes de su examen, los tubos se pueden mantener refrigerados a 4 °C hasta un máximo de 2 semanas.

EXAMEN MICROSCOPICO PARA EL PALUDISMO

Utilizando un microscopio de fluorescencia o uno de luz blanca con un adaptador **ParaLens Advance** y un portatubos **ParaViewer**:

1. Inserte el tubo **QBC** centrifugado en la ranura del **ParaViewer**. Colóquelo de modo que el extremo tapado ocupe la depresión del portatubos.
2. Coloque el **ParaViewer** con el tubo **QBC** en la platina del microscopio. Utilizando el ocular u oculares de 10x de punto alto y campo amplio y un objetivo de 50x a 60x, y manteniendo una distancia de trabajo mínima de 0,34 mm, añada 2 ó 3 gotas de aceite de inmersión óptico fluorescente. Enfoque la capa de leucocitos del tubo.
3. Mueva la platina del microscopio hasta que la parte superior de la capa de glóbulos rojos expandida (próxima a la región entre los glóbulos rojos y los granulocitos) se encuentre en el campo visual.
4. Examine la circunferencia total del tubo, rotándolo colocado en el **ParaViewer**.
5. Examine el área partiendo de la región entre los glóbulos rojos y los granulocitos hacia el tapón, hasta abarcar de 10 a 15 campos.
6. Busque esquizontes y gametocitos de *Plasmodia* en la región entre granulocitos y linfocitos/monocitos en un máximo de 10 campos.
7. El examen para la exclusión de un negativo toma un total de aproximadamente 2 min.

La presencia de parásitos palúdicos queda indicada por las formas anulares bicolors marcadas de trofozoito notablemente evidentes en los glóbulos rojos próximos a la capa de granulocitos. La parte central, en donde la “piedra” del anillo estaría ubicada, será **verde**; y la parte del anillo será entre **verde y roja**.

Los gametocitos de *P. falciparum* aparecerán como cuerpos amarillos falciformes. Los esquizontes de *P. vivax* pueden ser reconocidos por la presencia de pigmento palúdico que aparece como un color castaño oscuro.

Los merozoítos convirtiéndose en esquizontes maduros con frecuencia se observarán muy claramente rodeando el pigmento castaño oscuro.

HOLOGRAMA ADHESIVO QBC

Todos los informes relativos a pruebas de paludismo realizadas mediante el Sistema **QBC** para el Diagnóstico de Paludismo se deben etiquetar con un holograma adhesivo **QBC**. Nota: el uso de la pegatina holográfica **QBC** garantiza a los revisores que las pruebas se realizaron utilizando auténtica tecnología **QBC**.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

La prueba del paludismo **QBC** es un método cualitativo para el diagnóstico "positivo" o "negativo" de pacientes. Numerosos informes han confirmado que la prueba **QBC** es considerablemente más sensitiva que los frotis sanguíneos en la detección del paludismo.^{1,4-8} No obstante, la prueba **QBC** podría no detectar niveles muy bajos de parasitemia. Con la prueba **QBC** los microscopistas experimentados pueden distinguir entre las diferentes especies de parásitos palúdicos.^{1,4,9} En algunos casos, podría ser necesario examinar un frotis sanguíneo poco denso a fin de diferenciar dichas especies.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

La técnica de **QBC** (capa leucocítica cuantitativa) se comparó con la película de sangre gruesa teñida con Giemsa (GTF) en condiciones de campo. Se recogieron 364 muestras de sangre y cada una se analizó con las técnicas **QBC** y GTF. La técnica GTF indicó 86 muestras de sangre positivas y 278 muestras negativas. La técnica **QBC** indicó 89 muestras positivas y 275 muestras negativas. Con respecto a los resultados obtenidos con GTF, la técnica de **QBC** presentó una sensibilidad del 87,2% y una especificidad del 95,0%; la concordancia entre las pruebas fue del 93,1%.

BIBLIOGRAFIA: Ver "Referencias" en la página 36.

QBC Malaria Test

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Das **QBC**-Malaria-Diagnosesystem ist eine qualitative Methode zum Schnellaufweis von Malaria-Parasiten in zentrifugiertem kapillarem und venösem Blut.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

In weiten Teilen der Welt werden Blutparasiten im allgemeinen durch mikroskopische Untersuchungen gefärbter Blutaussstriche diagnostiziert. Nun erlaubt die direkte Beobachtung von zentrifugiertem Blut in speziell beschichteten **QBC**-Röhrchen den Feldnachweis von Malaria-Parasiten durch eine Untersuchung infizierten Blutes, die nur 10 s bis 3 min lang dauert. Parasitendiagnose durch die **QBC**-Methode weist eine höhere Empfindlichkeit auf als herkömmliche Blutfilm-Mikroskopie, unter anderem weil durch sie eine vergleichsweise große Menge Blut auf Parasiteninfektion untersucht werden kann.¹ Die **QBC**-Methode konzentriert zusätzlich die meisten der Parasiten im engen Teil des Röhrchens, der optisch untersucht wird. Die **QBC**-Malaria-Testkomponenten erfordern keine kontrollierte Testumgebung oder Kühlmöglichkeiten. Die zentrifugierten **QBC**-Malaria-Röhrchen werden unter einem Fluoreszenzmikroskop oder einem Lichtmikroskop mit **QBC ParaLens Advance™**-LED-Fluoreszenzmikroskopaufsatz untersucht.

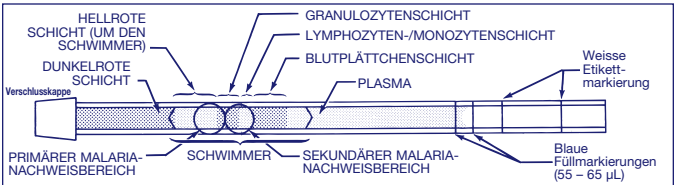
VERFAHRENSPRINZIP

Die **QBC**-Zentrifugalhämatologieanalyse macht sich eine graduierte Schichtenbildung gefärbter Blutzellen nach Dichte zunutze, zusammen mit einer mechanischen

Vergrößerung des Microhämatokrit-Leukozytenfilms. Diese **QBC**-Technologie erfährt ihre natürliche Erweiterung durch die mit Parasiten infizierten Zellen geringerer Dichte, die zwischen den getrennten Schichten der roten und weißen Blutkörperchen des zentrifugierten **QBC**-Röhrchens konzentriert sind. **QBC**-Malaria-Röhrchen sind innen mit dem Farbstoff Acridinorange und Antikoagulanzen beschichtet. Der Gebrauch des Farbstoffs Acridinorange zur Sichtbarmachung von Malaria-Parasiten hat sich als vorteilhaft erwiesen.¹⁰ Die Vergrößerung der durch Zentrifugierung getrennten Zellschichten wird durch einen Schwimmkörper aus Kunststoff erreicht, der in das Röhrchen eingesetzt wird, nachdem dieses mit Kapillar- oder Venenblut gefüllt und mit einem Plastikverschluß verschlossen wurde. Getrennte, vergrößerte Schichten, die im zentrifugierten Röhrchen klar erkennbar sind, bestehen wie unten dargestellt aus dunklen und hellen roten Blutkörperchen, Granulozyten, Lymphozyten/ Monozyten und Thrombozyten. Die Untersuchung der Grenzregion zwischen den hellen roten Blutkörperchen und den Granulozyten (dort treten die Parasiten typischerweise am häufigsten auf ^{2,3}) unter dem Fluoreszenzmikroskop erlaubt den schnellen und eindeutigen Nachweis von besonders gefärbten Malariaorganismen.

REAGENZIEN

Jedes **QBC**-Malaria-Röhrchen ist auf der Innenseite mit Acridinorange, Kaliumoxalat, Natriumheparin und K₂EDTA beschichtet.



WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

In-vitro-Diagnostikum.

- Für die Malaria-Röhrchen kann Kapillarblut aus der Fingerbeere oder der Ferse sowie venöses Blut verwendet werden.
- Tragen Sie stets Schutzhandschuhe bei der Abnahme und im Umgang mit Blut.

WARNHINWEIS

BLUTPROBEN KÖNNEN HIV, HÄPATITISVIRUS ODER ANDERE INFEKTIONSTRÄGER ENTHALTEN. BEHANDELN SIE BLUT ALS POTENTIELLEN BIORISIKOSTOFF, DURCH DEN INFEKTIONEN ÜBERTRAGEN WERDEN KÖNNEN.

STABILITÄT UND AUFBEWAHRUNG DER QBC-RÖHRCHEN

QBC-Röhrchen können bis zum angegebenen Verfallsdatum für die Malariauntersuchung verwendet werden. Die Röhrchen sollten bei Temperaturen zwischen 16 °C und 37 °C abgedeckt gelagert werden, vor Hitze und Sonnenlicht geschützt. Röhrchen NICHT länger direktem Sonnenlicht oder Lampenlicht aussetzen. Dies schadet der Acridinorange-Beschichtung.

BLUTABNAHME

Für die Malariadiagnose verwenden Sie Blut aus der Fingerbeere oder der Ferse oder auch eine frische venöse Blutprobe. Beachten Sie dabei folgende Vorsichtsmaßnahmen:

- Reinigen Sie auf jeden Fall die Haut gründlich mit einem Antiseptikum und trocknen Sie die Stelle anschließend mit einem sterilen Tupfer.
- Für die Entnahme von Kapillarblut, die Haut mit einer sterilen Blutlanzette punktieren. Nehmen Sie 55 bis 65 μL Blut direkt in das **QBC**-Röhrchen ab, wie unter TESTVERFAHREN beschrieben.
- Venöses Blut wird mit einer sterilen Spritze oder einem evakuierten Blutabnehmeröhrchen entnommen. Das Füllen der **QBC**-Röhrchen ist unter TESTVERFAHREN beschrieben.

WARNHINWEIS

UM DIE ÜBERTRAGUNG VON INFEKTIONEN ZU VERHINDERN, SOLLTE ZUR BLUTABNAHME NUR STERILES MATERIAL VERWENDET WERDEN.

Gerinnungsmittel: **QBC**-Malariaöhrchen sind auf der Innenseite bereits mit Natriumheparin und Bikalium-EDTA beschichtet.

Störfaktoren: Leukozytenkerne oder andere Artefakte in der Blutprobe scheinen die Messung und die Anzeige der Malariaparasiten durch die **QBC**-Methode nicht negativ zu beeinflussen.

Stabilität bereits mit Blut befüllter Röhrchen: Mit Blut gefüllte **QBC**-Malariaöhrchen sollten sofort nach dem Füllen zentrifugiert werden (siehe TESTVERFAHREN). Nach dem Zentrifugieren können die Röhrchen bis zu 3 Tagen ungekühlt aufbewahrt werden, und zwar bei Temperaturen bis zu 37 °C, ehe die mikroskopische Untersuchung stattfindet. Die Röhrchen sind stehend aufzubewahren, mit dem Verschluss nach unten. Bei Kühlung auf 4 °C können Röhrchen vor der Untersuchung bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden.

TESTVERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Malariaöhrchen, Schwimmkörper, Verschlusskappen, Packungsbeilage, Klebe-Etiketten für Patientendaten, QBC-Hologrammetiketten.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

- Sterile Blutlanzetten
- Pinzette
- Sterile Tupfer
- Fluoreszierendes optisches Immersionsöl
- **QBC-Kapillarblutzentrifuge**
- **QBC-Workstation**
- **ParaViewer**-Röhrchenhalter und
- **ParaLens Advance™**-LED-Fluoreszenzmikroskopaufsatz mit Objektiv mit 60-facher Vergrößerung und Verbundlichtmikroskop mit 10x-High Point-, Weitfeldokular oder
- Standard Fluoreszenzmikroskop mit FITC-Filtercluster und Öbobjektivlinse mit 50- bzw. 60-facher Vergrößerung und einer Arbeitsdistanz von mindestens 0,32 mm.

VORBEREITEN DER BLUTRÖHRCHEN UND TESTVERFAHREN

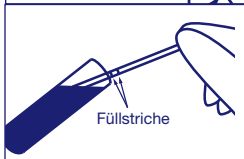
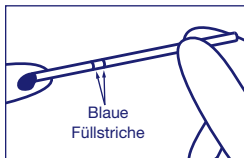
Jede **QBC**-Maliariadiagnose erfordert 55 μL bis 65 μL Blut aus einem Finger- oder Fersenstich oder aus einer frisch abgenommenen venösen Blutprobe. Die Vorbereitung der Röhrchen und das Untersuchungsverfahren sind im folgenden beschrieben.

WARNUNG: Tragen Sie beim Abnehmen und Arbeiten mit Blut Schutzhandschuhe.

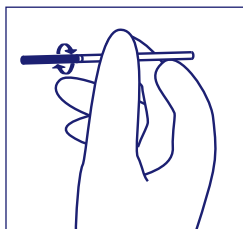
BLUTRÖHRCHEN VORBEREITEN UND ZENTRIFUGIEREN

1. Füllen Sie das **QBC**-Malariaröhrchen, ausgehend von dem den zwei blauen Strichen nächstgelegenen Ende, direkt aus einem Finger- oder Fersenstich oder einem Abnehmeröhrchen mit gut gemischtem venösem Blut. Füllen Sie das Röhrchen durch Kapillarwirkung bis zu einer Höhe zwischen den beiden blauen Strichen.

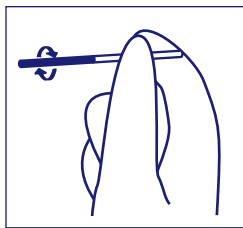
Wischen Sie alles Blut von der Außenseite des Röhrchens mit einem fusselfreien Tuch ab.



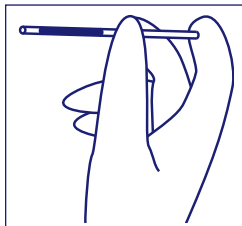
2. HALTEN SIE DAS RÖHRCHEN NAHEZU HORIZONTAL und rollen Sie es mehrmals zwischen den Fingern, um das Blut mit dem Gerinnungsmittel zu vermischen.



3. DREHEN SIE DAS RÖHRCHEN UM UND STELLEN ES SCHRÄG, damit das Blut ans andere Ende mit der organgefarbenen Beschichtung fließen kann. Rollen Sie das Röhrchen 5 mal zwischen den Fingern, um das Blut mit dem Farbstoff zu mischen.



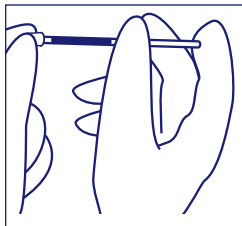
4. NEIGEN SIE DAS RÖHRCHEN GERINGFÜGIG, und lassen Sie das Blut vom orangefarben beschichteten Ende um mindestens 6 mm zurückfließen, um die Verschlußkappe aufzusetzen. Halten Sie den Zeigefinger auf das den Füllstrichen am nächsten gelegene Ende.



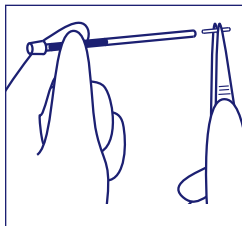
5. DRÜCKEN SIE EINE KUNSTSTOFF-VERSCHLUSSKAPPE auf das offene Ende des Röhrchens. Drehen und drücken Sie die Kappe dann mit der Hand, um einen dichten Abschluß zu gewährleisten.

WARNHINWEIS

VERSCHLUSSKAPPE NICHT MIT GEWALT AUF DAS RÖHRCHEN DRÜCKEN. DAS RÖHRCHEN IST AUS GLAS UND KANN DABEI BRECHEN.



6. NEHMEN SIE MIT EINER SAUBEREN PINZETTE EINEN SCHWIMMKÖRPER AUF und führen Sie ihn in das offene Ende des Röhrchens ein. Klopfen Sie mit der Pinzette auf das Röhrchen, bis der Schwimmkörper sich im Röhrchen befindet.



7. Schreiben Sie zur Identifizierung der Probe die Patientennummer auf eines der Klebe-Etiketten, die in der Testpackung mitgeliefert werden. Dann wickeln Sie das kurze Ende des Etiketts straff um das Röhrchen, wobei Sie darauf achten, daß das Etikett **zwischen den beiden weißen Strichen auf dem Röhrchen** angebracht wird.

Bemerkung: Bereiten Sie nach Bedarf weitere Röhrchen zum Zentrifugieren vor. Bis zu **20 Röhrchen** können zugleich zentrifugiert werden.

8. LEGEN SIE EIN RÖHRCHEN IN DEN PROBENTELLER DER ZENTRIFUGE EIN. ACHTEN SIE DARAUF, DASS DER ROTOR AUSBALANCIERT IST. Befestigen Sie den Probentellerdeckel. Verriegeln Sie den Deckel der Zentrifuge. Setzen Sie die Zentrifuge in Gang.
9. NACH 5 MIN ZENTRIFUGATIONSZEIT und nach Stillstand des Rotors nehmen Sie die Röhrchen aus der Zentrifuge. Setzen Sie die Röhrchen senkrecht, mit der Verschlußkappe nach unten, in das Röhrchengestell.

WICHTIG: Nach dem Zentrifugieren können QBC-Malariaröhrchen bis zu 3 Tagen bei 16 °C bis 37 °C aufbewahrt werden, ehe die mikroskopische Untersuchung auf Malariaparasiten stattfindet. Die Röhrchen können vor der Untersuchung bis zu 2 Wochen lang gekühlt bei 4 °C aufbewahrt werden.

MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

Verwenden Sie ein Fluoreszenzmikroskop oder ein Mikroskop für weißes Licht, ausgerüstet mit **ParaLens Advance**-Adapter und **ParaViewer**-Röhrchenbetrachtungshalter.

1. Legen Sie das zentrifugierte **QBC**-Röhrchen in die Vertiefung des **ParaViewer**, und zwar so, daß das verschlossene Ende über die Mulde des Halters hinausragt.
2. Setzen Sie den **ParaViewer** mit dem **QBC**-Malariaröhrchen auf den Objektisch des Mikroskops. Verwenden Sie (ein) Weitwinkel-Okular(e) mit 10-facher Vergrößerung und stark konvexer Linse und ein Objektiv 50x oder 60x, mit einer Arbeitsdistanz von mindestens 0,34 mm, und fügen Sie 2 – 3 Tropfen fluoreszierendes optisches Immersionsöl zu. Fokussieren Sie auf das Gebiet des Leukozytenfilms im Röhrchen.
3. Bewegen Sie den Objektisch des Mikroskops, bis die Oberkante der expandierten Schicht von roten Blutkörperchen (nahe der Grenze zwischen roten Blutkörperchen und Granulozyten) im Gesichtsfeld liegt.
4. Untersuchen Sie den gesamten Umfang des Röhrchens, indem Sie es im **ParaViewer** drehen.
5. Untersuchen Sie das Gebiet von der Grenze zwischen den roten Blutkörperchen und den Granulozyten in Richtung der Verschlusskappe über eine Länge von 10 bis 15 Gesichtsfeldern.
6. Prüfen Sie das Vorkommen von Schizonten und Gametozyten der Plasmodien bei der Grenze zwischen Granulozyten und Lymphozyten/Monozyten über einen Abstand von 10 Gesichtsfeldern.
7. Die insgesamt benötigte Untersuchungszeit (zum Ausschluß eines negativen Befundes) beträgt etwa 2 min.

Das Vorhandensein von Malariaparasiten äußert sich durch die ausgeprägten, zweifarbigen Siegelringformen von Trophozoiten, die in den Zellen nahe der Granulozytenschicht besonders auffallen. Ein zentrales Gebiet, wo der „Stein“ des Siegelrings liegen würde, ist **grün**, während das Ringgebiet **grün bis rot** ist.

Gametozyten des *P. falciparum* erscheinen als gelbe, sichelförmige Körper. Die Schizonten von *P. vivax* kann man durch die Anwesenheit von Malariapigment erkennen, das als dunkelbraune Farbe erscheint.

In Entwicklung befindliche Merozoiten in reifen Schizonten kann man sehr oft am dunkelbraun gefärbten Malariapigment erkennen.

QBC-HOLOGRAMMAUFKLEBER

Bringen Sie auf allen Berichten über mit dem **QBC** Malaria Test durchgeführte Malariatests einen **QBC**-Hologrammaufkleber an. Hinweis: Mit der Verwendung von **QBC**-Hologrammaufklebern geben Sie dem Überprüfer zu erkennen, dass der Test mit echter **QBC**-Technologie durchgeführt wurde.

GRENZEN DES TESTS

Der **QBC**-Malariatest ist eine qualitative Methode zur Diagnose von „positiven“ oder „negativen“ Patienten. Aus zahlreichen Berichten hat sich erwiesen, daß der **QBC**-Malariatest für die Malaria-Anzeige wesentlich empfindlicher ist als gefärbte Blutproben.^{1,4-8} Allerdings besteht die Möglichkeit, daß ein sehr geringer Grad von

Parasitämie eventuell durch **QBC** nicht angezeigt wird. Erfahrene Mikroskopisten können mit Hilfe des **QBC**-Tests verschiedene Arten von Malaria-Parasiten unterscheiden.^{1,4,9} In manchen Fällen kann es erforderlich sein, einen dünnen Blutaussstrich zu untersuchen, um zwischen verschiedenen Parasitenarten zu scheid.

LEISTUNGSMERKMALE

Die **QBC**-Methode (**QBC** = Quantitative Pufferbeschichtung) wurde unter Feldbedingungen mit dem Giemsa-gefärbten Dickblutfilm (GTF, Giemsa Thick Blood Film) verglichen. Dreihundertvierundsechzig (364) Blutproben wurden gesammelt und jede wurde sowohl mit der **QBC**- als auch mit der GTF-Methode getestet. Die GTF-Methode ergab 86 positive Blutproben und 278 negative Proben. Die **QBC**-Methode ergab 89 positive Blutproben und 275 negative Proben. Im Verhältnis zu den Ergebnissen der GTF-Methode ergab die **QBC**-Methode eine Empfindlichkeit von 87,2 % und eine Spezifität von 95,0 %; die Konkordanz zwischen den Tests betrug 93,1 %.

LITERATURNACHWEIS: Siehe „References“ auf Seite 36.

QBC Malaria Test

Italiano

USO PREVISTO

Il Test Malaria **QBC** è un metodo di screening qualitativo per la rilevazione rapida della malaria in sangue venoso o capillare centrifugato.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

In gran parte del mondo, la diagnosi di parassitemia elevata viene in genere definita tramite esame microscopico di strisci di sangue colorati. L'osservazione diretta di sangue centrifugato in capillari **QBC** provvisti di un rivestimento specifico consente ora di rilevare sul campo i parassiti della malaria con un esame (della durata variabile da 10 sec a 3 min) del sangue parassitato. La diagnosi di malaria con il metodo **QBC** è più sensibile della tradizionale microscopia a striscio di sangue grazie - in parte - al volume relativamente maggiore di sangue sottoposto a screening per l'infezione parassitaria.¹ Il metodo **QBC** concentra inoltre la maggior parte dei parassiti nella zona stretta dei capillari di sangue oggetto dell'esame ottico. I componenti del test Malaria **QBC** non richiedono sistemi di refrigerazione o ambiente di test controllato. I capillari Malaria **QBC** sono esaminati al microscopio a fluorescenza o a luce bianca usando un accessorio per microscopio a fluorescenza a LED **QBC ParaLens Advance™**.

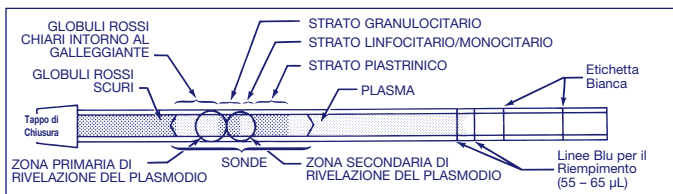
PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'analisi ematologica a centrifuga **QBC** utilizza la stratificazione a gradiente di densità delle cellule ematiche colorate, insieme all'espansione meccanica del buffy coat microematocrito. La naturale espansione di questa tecnologia **QBC** è assicurata dalle cellule infettate dal parassita, meno dense, concentrate negli strati leucocitari ed eritrocitari separati del capillare **QBC** centrifugato. I capillari Malaria **QBC** sono internamente rivestiti di un colorante a base di arancio di acridina e anticoagulanti. È stato dimostrato che l'uso dell'arancio di acridina per visualizzare i parassiti della malaria comporta numerosi vantaggi.¹⁰ L'espansione degli strati cellulari separati

mediante centrifugazione si ottiene mediante un galleggiante di plastica, inserito nel capillare riempito di sangue venoso o capillare e sigillato con un tappo in plastica. Gli strati espansi, separati, chiaramente identificabili nel capillare centrifugato, sono eritrociti scuri e chiari, granulociti, linfociti-monociti e piastrine, come qui illustrato. L'esame al microscopio a fluorescenza della regione di interfaccia tra gli eritrociti chiari e i granulociti (dove i parassiti sono tipicamente più abbondanti^{2,3}) consente la rilevazione rapida e inequivocabile degli organismi malarici colorati in modo caratteristico.

REAGENTI

Ogni capillare Malaria **QBC** è internamente rivestito di arancio di acridina, ossalato di potassio, eparina sodica e K_2EDTA .



AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per Uso Diagnostico *in vitro*.

- Malaria possono essere usati con sangue capillare (prelevato dal dito o dal tallone) o sangue venoso.
- Indossare sempre guanti protettivi da laboratorio durante il prelievo e la manipolazione del sangue.

ATTENZIONE

ICAMPIONIDISANGUEPOSSONOCONTENEREIVIRUSDELL'IMMUNODEFICIENZA UMANA (HIV), DELL'EPATITE B O ALTRI AGENTI INFETTIVI. MANIPOLARE IL SANGUE COME POTENZIALE MATERIALE A RISCHIO BIOLOGICO IN GRADO DI TRASMETTERE INFEZIONI.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE DEI CAPILLARI QBC

I capillari **QBC** possono essere usati per i test della malaria sino alla data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione. Conservare i capillari a 16 °C – 37 °C, al riparo da calore e luce diretta. NON esporre i capillari a luce solare o illuminazione diretta per periodi prolungati in quanto il rivestimento a base di arancio di acridina potrebbe deteriorarsi.

PRELIEVO DEL SANGUE

Per la diagnosi della malaria, usare sangue prelevato da un dito o dal tallone oppure un campione venoso appena prelevato. Osservare le precauzioni generali qui illustrate.

- Pulire accuratamente l'area cutanea con un agente antisettico e asciugarla con un panno sterile.

- Per il sangue capillare, eseguire la puntura dermica con una lancetta sterile. Prelevare 55 – 65 µL di sangue direttamente nel capillare **QBC** come descritto nella sezione PROCEDURE DEL TEST.
- Per il sangue venoso, prelevare il campione con una siringa sterile o un dispositivo di prelievo a depressione. Per il riempimento del capillare **QBC**, vedere le PROCEDURE DEL TEST.

ATTENZIONE

PER EVITARE LA TRASMISSIONE DELL'INFEZIONE, ASSICURARSI CHE TUTTI I MATERIALI PER IL PRELIEVO SIANO STATI ACCURATAMENTE STERILIZZATI PRIMA DELL'USO.

Anticoagulanti: i capillari Malaria **QBC** sono internamente rivestimenti di eparina sodica ed EDTA dipotassico.

Sostanze interferenti: la presenza di molteplici artefatti o nuclei leucocitari nel sangue apparentemente non confondono od occultano la rilevazione dei parassiti con il metodo **QBC**.

Stabilità dei capillari riempiti di sangue: centrifugare i capillari Malaria **QBC** riempiti di sangue subito dopo la preparazione (vedere PROCEDURE DEL TEST). Dopo la centrifugazione, è possibile conservare i capillari non refrigerati per un massimo di 3 giorni sino a temperature di 37 °C, in attesa dell'esame microscopico. Conservare i capillari in posizione verticale, con il tappo rivolto in basso. I capillari possono essere conservati in frigorifero a 4 °C per un massimo di due settimane in attesa dell'esame.

PROCEDURE DEL TEST

Materiali forniti: Capillari Malaria, galleggianti, tappi, foglietto illustrativo, etichette adesive per i capillari da usare per l'identificazione dei pazienti, etichette olografiche **QBC**.

Materiali richiesti ma non forniti:

- Lancette sterili
- Pinze
- Panni sterili
- Olio per immersione ottica a fluorescenza
- **Centrifuga capillare QBC**
- **Stazione di lavoro QBC**
- Porta-capillari **ParaViewer** e
- Accessorio per microscopio a fluorescenza a LED **ParaLens Advance™** con obiettivo 60x e microscopio composto a luce bianca con campo visivo 10x, oculari a campo ampio oppure
- Microscopio a fluorescenza standard, provvisto di filtri FITC e obiettivi a bagno d'olio 50x o 60x per funzionamento a distanze maggiori di 0,32 mm.

PREPARAZIONE DEI CAPILLARI PER L'ANALISI E PROCEDURE DEL TEST

Ogni test **QBC** richiede 55 µL - 65 µL di sangue prelevato da un dito o tallone o di un campione di sangue venoso appena prelevato. Vengono qui descritte la preparazione dei capillari e le procedure del test.

ATTENZIONE: Indossare guanti protettivi durante il prelievo e la manipolazione di sangue per evitare la trasmissione di malattie.

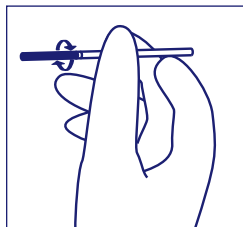
PREPARAZIONE E CENTRIFUGAZIONE DEL CAPILLARE CONTENENTE IL SANGUE PER IL TEST

1. Riempire il capillare **QBC**, dall'estremità più vicina ai due trattini blu, direttamente dal dito (o tallone) sottoposto a puntura o dalla provetta di prelievo di sangue venoso ben mescolato. Riempire il capillare per azione capillare sino a un livello compreso tra le due righe blu.

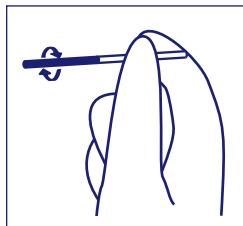
Con un panno asciutto, che non lasci residui, pulire la superficie esterna della provetta eliminando eventuali tracce di sangue.



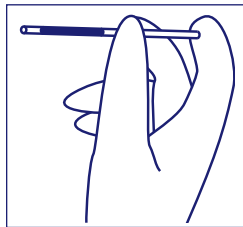
2. **TENERE IL CAPILLARE IN POSIZIONE QUASI ORIZZONTALE** e farlo ruotare tra le dita varie volte per mescolare il sangue con il rivestimento anticoagulante.



3. **GIRARE IL CAPILLARE E INCLINARLO** per consentire al sangue di affluire all'estremità rivestita, di colore arancio. Fare ruotare il capillare tra le dita 5 volte per mescolare il sangue con l'agente colorante.



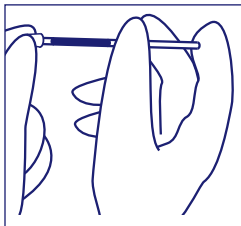
4. **INCLINARE IL CAPILLARE LEGGERMENTE** per consentire al sangue di retrocedere dall'estremità arancione di almeno 6 mm per lasciare libero lo spazio per il tappo; chiudere quindi con il dito indice l'estremità del capillare più vicina ai trattini di riempimento blu.



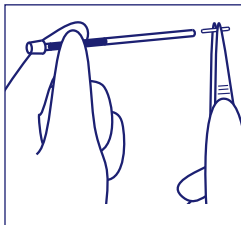
5. CHIUDERE l'estremità aperta del capillare con il TAPPO DI PLASTICA. Girare quindi il tappo con la mano sino ad assicurare una chiusura stagna.

ATTENZIONE

NON FORZARE LA CHIUSURA DEL TAPPO SUL CAPILLARE. I CAPILLARI SONO IN VETRO E POTREBBERO ROMPERSI.



6. CON UNA PINZA PULITA, PRELEVARE UN GALLEGGIANTE e inserirlo nell'estremità inutilizzata del capillare. Picchiettare con la pinza finché il galleggiante non è sistemato nel capillare.



7. Ai fini dell'identificazione, annotare il numero del paziente su un'etichetta adesiva fornita con il kit. Avvolgere quindi l'estremità corta dell'etichetta intorno al capillare, prestando attenzione a posizionarla **tra le due righe bianche del capillare**.

Nota: Preparare altri capillari per la centrifugazione, come richiesto. È possibile centrifugare sino a **20 capillari** per volta.

8. SISTEMARE I CAPILLARI nelle scanalature del rotore della centrifuga. POSIZIONARE I CAPILLARI IN MANIERA CHE IL ROTORE SIA BILANCIATO. Montare il coperchio del rotore, quindi chiuderlo e agganciarlo. Avviare la centrifuga.
9. DOPO 5 MIN DI CENTRIFUGAZIONE e una volta fermato il rotore, rimuovere i capillari dalla centrifuga. Conservare i capillari in posizione verticale, con l'estremità tappata in basso, sul porta-capillari.

IMPORTANTE: dopo la centrifugazione, i capillari Malaria QBC possono essere conservati per un massimo di 3 giorni a 16 °C – 37 °C in attesa dell'esame microscopico di screening per i parassiti; in alternativa, i capillari possono essere refrigerati a 4 °C per un massimo di 2 settimane prima dell'esame.

ESAME MICROSCOPICO PER LA MALARIA

Usando un microscopio a fluorescenza o a luce bianca provvisto di adattatore **ParaLens Advance** e porta-capillari **ParaViewer**, procedere nel modo seguente.

1. Inserire il capillare **QBC** centrifugato nella scanalatura del **ParaViewer**. Posizionare il capillare in modo che l'estremità tappata fuoriesca dalla cavità del porta-capillari.
2. Posizionare il **ParaViewer** con il capillare **QBC** sul piattello del microscopio. Usare un oculare 10x, ad ampio campo visivo, a curvatura elevata e un obiettivo 50x - 60x con una distanza operativa minima di 0,34 mm. Aggiungere 2 – 3 gocce di olio

per immersione a fluorescenza ottica. Mettere a fuoco l'area del buffy coat del capillare.

3. Spostare il piattello del microscopio sino a portare la sommità dello strato eritrocitario espanso (vicino all'interfaccia eritrociti - granulociti) entro il campo visivo.
4. Esaminare l'intera circonferenza del capillare facendolo ruotare nella scanalatura del **ParaViewer**.
5. Esaminare l'area dall'interfaccia eritrociti – granulociti al tappo a una distanza di 10 – 15 campi.
6. Ricercare gli schizonti e i gametociti di *Plasmodia* in corrispondenza dell'interfaccia granulociti – linfociti/monociti per un massimo di 10 campi.
7. Il tempo di esame totale necessario per escludere un esito negativo è di circa 2 min.

La presenza dei parassiti della malaria è indicata dall'aspetto anulare e bicolore caratteristico dei trofozoiti nettamente visibile nelle cellule adiacenti allo strato granulocitario. L'area centrale dell'anello, corrispondente all'ipotetica montatura della pietra, sarà **verde**; il cerchio, corrispondente all'anello, sarà **verde - rosso**.

I gametociti di *P. falciparum* appariranno come corpi falciformi di colore giallo. Gli schizonti di *P. vivax* sono riconoscibili per la presenza dei pigmenti della malaria, che appaiono di colore marrone scuro.

I merozoiti in fase di sviluppo negli schizonti maturi sono spesso nettamente delineati intorno al pigmento marrone scuro.

ETICHETTA OLOGRAFICA QBC

Applicare etichette olografiche **QBC** a ogni rapporto dei test della malaria effettuati utilizzando Test Malaria **QBC**. Nota: l'uso dell'etichetta olografica **QBC** certifica per il revisore del test che il test è stato eseguito utilizzando tecnologia **QBC** autentica.

LIMITI DEL TEST

Il test della malaria **QBC** è un metodo qualitativo di diagnosi che consente di differenziare tra pazienti "positivi" e "negativi". Nonostante numerosi studi abbiano dimostrato che, per la rilevazione della malaria, il test **QBC** sia significativamente più sensibile degli strisci di sangue colorato,^{1,4-8} il metodo **QBC** non è in grado di rilevare livelli molto bassi di parassitemia. Microscopisti esperti possono differenziare le varie specie di parassiti della malaria usando il test **QBC**.^{1,4,9} In alcuni casi, può essere necessario l'esame di un sottile striscio di sangue per differenziare le specie.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

La tecnica **QBC** (buffy coat quantitativo) è stata comparata sul campo al film ematico spesso trattato con colorazione di Giemsa (GTF). Sono stati raccolti trecentosessantaquattro (364) campioni ematici, ciascuno dei quali testato con entrambe le tecniche, ossia **QBC** e GTF. La tecnica GTF ha indicato 86 campioni ematici positivi e 278 negativi, mentre con la tecnica **QBC**, 89 campioni sono risultati positivi e 275 negativi. Rispetto ai risultati ottenuti con la tecnica GTF, la **QBC** ha registrato una sensibilità e una specificità rispettivamente dell'87,2% e 95,0%, mentre la concordanza tra i test è stata del 93,1%.

BIBLIOGRAFIA: vedere "References" a pagina 36.

QBC Malaria Test

Portuguese

FINALIDADE DE USO

O Teste para Diagnóstico de Malária **QBC** é um método de triagem qualitativo para a detecção rápida da presença da malária, em espécimes centrifugados de sangue capilar ou venoso.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

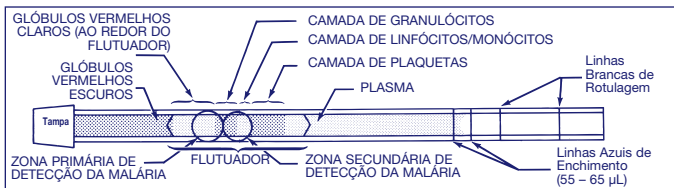
Em grande parte do mundo, estabelece-se o diagnóstico de muitas parasitoses sanguíneas pela observação microscópica da gota espessa de sangue corado. Agora, a observação direta de sangue centrifugado em tubos **QBC** especialmente revestidos permite a detecção em campo do parasita em amostras de sangue infectadas, por meio de um exame que leva entre 10 sec e 3 min. O diagnóstico do parasita pelo método **QBC** é mais sensível que o teste convencional da gota espessa de sangue o que é explicado em parte pelo volume comparativamente maior de sangue triado para a infecção parasitária.¹ Além disso, o método **QBC** concentra a maior parte dos parasitas na zona estreita dos tubos para sangue, a qual é examinada opticamente. Os componentes do Teste para Diagnóstico de Malária **QBC** não requerem ambientes de exame controlados nem condições de refrigeração. Os Tubos para a Malária QBC Centrifugados são examinados sob um microscópio fluorescente, ou um microscópio óptico, utilizando o acessório de microscopia fluorescente LED a QBC ParaLens Advance™.

PRINCÍPIOS (PRINCIPLES OF THE PROCEDURE)

A análise hematológica por centrifugação **QBC** utiliza a formação de camadas por gradiente de densidade das células sanguíneas coradas junto com a expansão mecânica do creme leucocitário do microematócrito. Um prolongamento natural dessa tecnologia **QBC** é fornecido pelo fato das células infectadas pelo parasita serem menos densas e ficarem concentradas dentro das camadas separadas de hemácias e leucócitos do tubo **QBC** centrifugado. Os Tubos de Teste para Diagnóstico de Malária **QBC** são revestidos internamente com o corante laranja de acridina, para a visualização dos parasitas da malária, e com anticoagulantes. Têm sido demonstradas vantagens na coloração dos parasitas da malária com o corante laranja de acridina.¹⁰ Obtém-se a expansão das camadas celulares separadas por centrifugação através de um flutuador de plástico que é inserido no tubo após enchê-lo com sangue capilar ou venoso e selá-lo com um fecho plástico. As camadas separadas e expandidas, claramente identificáveis no tubo centrifugado compreendem os glóbulos vermelhos claros e escuros, os granulócitos, os linfócitos-monócitos e as plaquetas, conforme ilustrado abaixo. O exame sob microscopia de fluorescência realizado na interface entre os glóbulos vermelhos claros e os granulócitos (onde os parasitas são caracteristicamente mais abundantes^{2,3}) permite a detecção rápida e inequívoca dos parasitas da malária caracteristicamente corados.

REAGENTES

Cada Tubo de Teste para Diagnóstico de Malária **QBC** é revestido internamente com laranja de acridina, oxalato de potássio, heparina sódica e K₂EDTA.



ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Para diagnóstico *in vitro*.

- Os Tubos para Diagnóstico da Malária podem ser usados com sangue capilar, coletado do dedo ou do calcanhar, ou com sangue venoso.
- Use luvas protetoras tipo laboratório, sempre que estiver coletando ou manipulando amostras de sangue.

CUIDADO

OS ESPÉCIMES DE SANGUE PODEM CONTER O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV), O VÍRUS DA HEPATITE B OU OUTROS AGENTES INFECIOSOS. TRATE O SANGUE COMO UM RISCO BIOLÓGICO EM POTENCIAL, CAPAZ DE TRANSMITIR INFECÇÕES.

ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO DOS TUBOS QBC

Os Tubos **QBC** podem ser utilizados nos testes de malária até a data de validade carimbada no rótulo da embalagem. Mantenha os tubos a 16° - 37°C, longe do calor e da luz solar direta. NÃO exponha os tubos à luz solar ou à iluminação superior, por períodos de tempo prolongados, já que o revestimento do corante laranja de acridina pode deteriorar-se.

COLETA DE SANGUE

Para o diagnóstico da malária, use sangue coletado por intermédio de punção do dedo ou do calcanhar, ou uma amostra venosa recém-coletada. Siga as seguintes precauções gerais:

- Não deixe de limpar cuidadosamente a pele com um agente anti-séptico; em seguida, seque com gaze estéril.
- No caso do sangue capilar, faça uma punção na pele com uma lanceta estéril. Colete 55 a 65 µL de sangue, diretamente no Tubo **QBC**, conforme descrito na seção PROCEDIMENTOS DE TESTE.
- No caso de sangue venoso, aspire a amostra com uma seringa estéril ou com um dispositivo de coleta a vácuo. Vide PROCEDIMENTOS DE TESTE sobre o enchimento do Tubo **QBC**.

CUIDADO

A FIM DE EVITAR A TRANSMISSÃO DE INFECÇÕES, CERTIFIQUE-SE DE QUE TODOS OS MATERIAIS DE COLETA DE SANGUE TENHAM SIDO CUIDADOSAMENTE ESTERILIZADOS ANTES DE SEREM UTILIZADOS.

Anticoagulantes: Os Tubos para Diagnóstico de Malária **QBC** são pré-revestidos internamente com heparina sódica e EDTA dipotássico.

Substâncias interferentes: Os núcleos dos leucócitos ou a presença de artefatos múltiplos no sangue não parecem confundir ou mascarar a detecção dos parasitas da malária pelo método **QBC**.

Estabilidade dos Tubos Contendo Sangue: Os Tubos para Diagnóstico de Malária **QBC** contendo sangue, deverão ser **prontamente** centrifugados após o preparo (vide PROCEDIMENTOS DE TESTE). Depois da centrifugação, os tubos podem ser mantidos sem refrigeração até um máximo de 3 dias, a temperaturas até 37°C, antes do exame microscópico. Durante o armazenamento, os tubos deverão ser mantidos em posição vertical, com o lado do fecho para baixo. Os tubos refrigerados a 4°C podem ser mantidos até 2 semanas antes de serem examinados.

PROCEDIMENTOS DE TESTE

Material fornecido: Tubos para Malária, flutuantes, fechados, literatura inclusa, etiquetas para tubos sensíveis à pressão para identificação dos pacientes, autocolantes holográficos QBC.

Materiais necessários, mas não fornecidos:

- Lancetas esterilizadas
- Pinça
- Toalhetes esterilizados
- Óleo de imersão óptica fluorescente
- **Centrifugação capilar QBC**
- **Estação de trabalho QBC**
- Suporte para tubos **ParaViewer** e
- Acessório para microscopia fluorescente LED **ParaLens Advance™**, com objectiva de 60x e microscópio óptico composto com Ponto Elevado de 10x, Lente(s) Grande Angular ou
- Microscópio Fluorescente Standard equipado com conjunto de filtros FITC e objectiva de imersão de 50x ou 60x com uma distância de trabalho superior a 0,32 mm.

PREPARO DO TUBO COM SANGUE E PROCEDIMENTOS

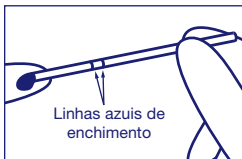
Cada teste **QBC** requer 55 µL a 65 µL de sangue de uma punção de dedo ou calcanhar, ou de uma amostra de sangue venoso recentemente coletada. O preparo do tubo e os procedimentos para a realização do teste são descritos abaixo.

CUIDADO: Use luvas de laboratório para proteger-se durante a coleta e o manuseio do sangue, a fim de evitar a transmissão de doenças.

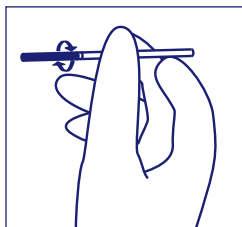
COMO PREPARAR E CENTRIFUGAR O TUBO SANGÜÍNEO

1. Encha o tubo para diagnóstico de malária **QBC**, a partir da extremidade mais próxima às duas linhas azuis, diretamente de uma punção de dedo (ou calcanhar) ou de um tubo de coleta de sangue venoso, bem homogeneizado. Encha o tubo por meio da ação capilar até um nível localizado entre as duas linhas azuis.

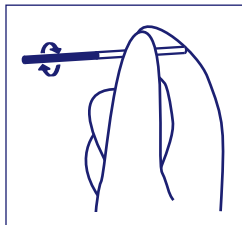
Usando papel absorvente que não solte fibras, remova qualquer resíduo de sangue do exterior do tubo.



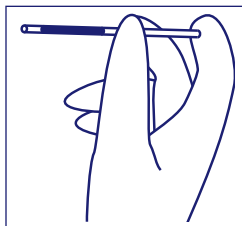
2. MANTENHA O TUBO QUASE HORIZONTAL e role-o entre os dedos várias vezes, a fim de misturar o sangue com o revestimento anticoagulante.



3. VIRE O TUBO E INCLINE-O, permitindo que o sangue escorra para a extremidade revestida com o corante alaranjado. Role o tubo entre os dedos umas 5 vezes, a fim de misturar o sangue com o agente corante.



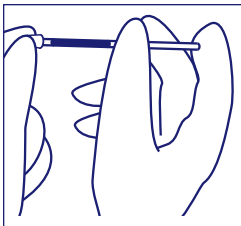
4. INCLINE O TUBO LIGEIRAMENTE, para que o sangue escorra, afastando-se da extremidade revestida com o corante alaranjado uma distância de, no mínimo, 6 mm, a fim de deixar espaço para a instalação do fecho; em seguida, coloque o dedo indicador sobre a extremidade do tubo mais próxima às linhas azuis de enchimento.



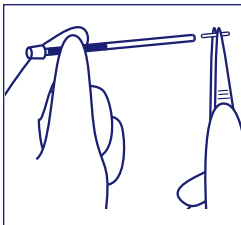
5. **APERTE UM FECHO DE PLÁSTICO** na extremidade não selada do tubo. Em seguida, torça e aperte o fecho manualmente, a fim de formar um laço firme.

CUIDADO

NÃO FORCE O FECHO NO TUBO. OS TUBOS SÃO FEITOS DE VIDRO E SÃO CAPAZES DE QUEBRAR.



6. **COM UMA PINÇA LIMPA, APANHE UM FLUTUADOR** e insira-o no lado não selado do tubo. Dê umas leves pancadinhas com o fórceps, até que o flutuador esteja dentro do tubo.



7. Para fins de identificação, escreva o número do paciente num rótulo autoadesivo, fornecido com o kit. Em seguida, enrole a extremidade curta do rótulo apertadamente ao redor do tubo, tomando cuidado para que o rótulo fique localizado **entre as duas linhas brancas no tubo**.

Observação: Prepare outros tubos para a centrifugação, conforme necessário. Até **20 tubos** podem ser centrifugados de uma só vez.

8. **COLOQUE OS TUBOS** nas fendas do rotor da centrífuga. **OS TUBOS DEVEM SER COLOCADOS DE FORMA QUE O ROTOR FIQUE EQUILIBRADO.** Instale a cobertura do rotor; em seguida, feche a tampa e trave-a. Dê a partida na centrífuga.
9. **DEPOIS DE 5 MIN DE CENTRIFUGAÇÃO** e após o rotor ter parado, retire os tubos da centrífuga. Guarde os tubos em posição vertical, com o fecho para baixo, na estante de tubos.

IMPORTANTE: Depois da centrifugação, os Tubos para Diagnóstico de Malária QBC podem ser armazenados até 3 dias, a 16° – 37°C, antes do exame microscópico dos parasitas; ou então, os tubos podem ser refrigerados a 4°C até 2 semanas, antes do exame.

EXAME MICROSCÓPICO PARA A DETERMINAÇÃO DA MALÁRIA

Usando um microscópio de fluorescência ou um microscópio óptico comum, equipado com um Adaptador **ParaLens Advance** e com um Porta-Tubo **ParaViewer**:

1. Insira o Tubo **QBC** centrifugado na fenda do **ParaViewer**. Posicione o tubo de forma tal que a extremidade selada se estenda por cima da área rebaixada do porta-tubo.
2. Coloque o **ParaViewer** com o Tubo **QBC** na platina do microscópio. Use ocular(es) 10x, campo amplo e ponto alto, e lente objetiva de 50x a 60x, com uma distância de trabalho mínima de 0,34 mm. Acrescente 2 – 3 gotas de óleo de imersão óptico para fluorescência. Focalize a área **do** creme leucocitário no tubo.

3. Desloque a platina do microscópio até que o topo da camada expandida de hemácias (próxima da interface hemácias-granulócitos) esteja dentro do campo visual.
4. Examine a circunferência do tubo inteiro, girando o tubo apoiado no **ParaViewer**.
5. Examine a área desde a interface hemácias-granulócitos até o fecho, numa distância de 10 a 15 campos.
6. Procure esquizontes e gametócitos de *Plasmodia* na interface granulócitos-linfócitos/monócitos, numa distância máxima de 10 campos.
7. A duração total do exame para excluir um resultado negativo é de aproximadamente 2 min.

A presença dos parasitas da malária é indicada pelas formas evidentes bicolores em anel-sinete dos trofozoítas, nitidamente visíveis em células próximas da camada de granulócitos. Uma área central-onde estaria localizada a “pedra” do anel-sinete será **verde**; a parte anular será **verde a vermelha**.

Os gametócitos de *P. falciparum* aparecerão como corpos amarelos falciformes. Os esquizontes de *P. vivax* podem ser reconhecidos pela presença do pigmento de malária que aparece como uma cor castanha escura.

Merozoítas em desenvolvimento em esquizontes maduros serão vistos freqüentemente com grande nitidez, cercando o pigmento castanho escuro.

AUTOCOLANTE HOLOGRÁFICO QBC

Afixe o autocolante holográfico **QBC** em todos os relatórios dos testes à Malária realizados utilizando o Teste da Malária **QBC**. Nota: a utilização do autocolante holográfico **QBC** garante ao revisor que o teste foi realizado utilizando tecnologia **QBC** autêntica.

LIMITAÇÕES DO TESTE

O teste de malária **QBC** é um método qualitativo para diagnosticar pacientes “positivos” ou “negativos”. Embora muitos pesquisadores tenham relatado que, na detecção da malária, o teste **QBC** é significativamente mais sensível que a gota espessa corada^{1,4-8}, o **QBC** pode não detectar níveis de parasitemia muito baixos. Microscopistas experientes conseguem discriminar entre várias espécies de parasitas da malária, usando o teste **QBC**.^{1,4,9} Em certos casos, é necessário examinar um fino esfregaço sanguíneo para diferenciar as espécies.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

A técnica de **QBC** (quantificação da camada leucocítica, quantitative buffy coat) foi comparada com a coloração de Giemsa para gota espessa de sangue (GTF - Giemsa-stained thick blood film) em condições de campo. Trezentas e sessenta e quatro (364) amostras de sangue foram coletadas e testadas com ambas as técnicas, **QBC** e GTF. A GTF resultou positiva em 86 e negativa em 278 amostras. A **QBC** resultou positiva em 89 e negativa em 275 amostras. Comparando-se com os resultados obtidos com GTF, **QBC** tem sensibilidade de 87.2% e especificidade de 95.0%; a concordância entre os testes foi de 93.1%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: Consulte “References” na página 38.

REFERENCES

1. Spielman, A., *et al.*, 1988: Malaria Diagnosis by Direct Observations of Centrifuged Samples of Blood. *Am. J. of Trop. Med. And Hyg.*, 39 (4), 337-442.
2. Worth, R.M., 1964: The Heparinized Capillary Tube as an Epidemiological Tool. LI. Concentration of Blood Parasites by Centrifugation. *Am. J. Hyg.*, 80,70-74.
3. Woo, P.T. and Hauck, L. 1987: The Hematocrit Centrifuge Smear Technique for the detection of mammalian Plasmodium. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81, 727-728.
4. Rickman, L., *et al.*, 1989: Rapid Diagnosis of Malaria by Acridine Orange Staining of Centrifuged Parasites. *Lancet* (1989) , 68-71.
5. Levine, R.A., *et al.*: Detection of haemoparasites using quantitative buffy coat analysis tubes. *Parasit Today*: 1989; 5 (4), 132-134.
6. Parzy, D., *et al.*: Quantitative buffy coat test (**QBC** test), Monofluo Kit Falciparum, comparative value in the rapid diagnosis of malaria. *Med. Trop.*: 1990, 50:97-101.
7. Namisiripongpun, V., *et al.*: The acridine orange stained capillary tube (the **QBC** system) in diagnosis of malaria: a field trial. Report presented at the 2nd Western Pacific Congress on Infectious Diseases and Chemotherapy. December 11-14, 1990. Jomtien Pattaya, Thailand.
8. Pornsilaptip, J., *et al.*: Detection of Plasmodia in acridine orange stained capillary tubes (the **QBC** system). *Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.*: 1990, 21 (4), 534540.
9. Atlas of Blood Parasite Morphologies: Becton Dickinson and Company: 1990.
10. Shute, G., Sodeman, T.: Identification of Malaria Parasites by Fluorescence Microscopy and Acridine Orange Staining. *Bull. Wld. Hlth. Org.*: 1973, 48, 591-596.
11. Wang, X., S. Zhu, Q. Liu, A. Hu, Z. Zan, Q. Yu, and Q. Yin. 1996. Field evaluation of the **QBC** technique for rapid diagnosis of vivax malaria. *Bull. World Health Organ.* 74 (6):599-603.



Manufacturer / Fabricant / Hersteller / Ditta produttrice / Fabricante



Use by / A utiliser avant / Verwendbar bis / Usare entro / Utilizar em / Usar antes de

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes)



Catalog number / Numéro catalogue / Bestellnummer / Numero di catalogo /
Número do catálogo / Número de catálogo



Authorized Representative in the European Community / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Representante autorizado na União Europeia / Representante autorizado en la Comunidad Europea



In Vitro Diagnostic Medical Device / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / Dispositivo medico diagnostico in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Temperature limitation / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Temperatura limite / Limitação da temperatura / Limitación de temperatura



Batch Code (Lot) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Codice del lotto (partita) / Código do lote (Lote) / Código de lote (Lote)



Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Contenuto sufficiente per <n> test / Contémo suficiente para <n> testes / Contenido suficiente para <n> pruebas



Consult Instructions for Use / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte as instruções de utilização / Consultar las instrucciones de uso



QBC Diagnostics
200 Shady Lane Drive
Philipsburg, PA 16866 U.S.A.
Tel: +1-877-231-3115



EMERGO Europe
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
The Netherlands
Tel: (31) (0) 70-345-8570
Fax: (31) (0) 70-346-7299

QBC Europe
A division of Woodley Equipment Company Ltd
Old Station Park Buildings, St Johns Street, Horwich, Bolton,
Lancashire, BL6 7NY, United Kingdom
01204 669033 and 01204 460446,



QBC Logo, QBC, ParaLens, ParaLens
Advance and ParaViewer are
trademarks of QBC Diagnostics, Inc.
© 2005-2011 QBC Diagnostics, Inc.