

# Snabbtest för malaria – bra komplement till mikroskopi

## Hög sensitivitet för Plasmodium falciparum hos svenska resenärer

**ULF BRONNER**, med dr, överläkare, infektionskliniken  
**LILLEMOR KARLSSON**, leg biomedicinsk analytiker, parasitlaboratoriet, avdelningen för klinisk mikrobiologi; båda Karolinska universitetssjukhuset, Solna

**BIRGITTA EVENGÅRD**, professor, överläkare, enheten för infektionssjukdomar, institutionen för klinisk mikrobiologi, Umeå universitet birgitta.evengard@climi.umu.se

Malaria är den vanligaste och mest allvarliga tropiska sjukdom som importeras till icke-endemiska länder. I Sverige registreras ca 90 fall per år, varav majoriteten är orsakade av Plasmodium falciparum [1]. En snabb diagnos är nödvändig för att fördröjning av lämplig behandling ska kunna undvikas. Eftersom mikroskopi av blodutstryk inte alltid är omedelbart tillgänglig, utgör snabbdiagnostiska test för malaria (så kallade RDT-test [rapid diagnostic tests]) viktiga komplement till mikroskopin. Testen har mycket god sensitivitet för P falciparum [2-8], medan förmågan att upptäcka P vivax, P ovale och P malariae är reducerad [2-5, 9].

Här presenteras en utvärdering av de test, MalaQuick och NOW Malaria, som använts i Sverige under de senaste 10 åren.

### PATIENTER OCH METODER

Under perioden augusti 2000 till och med augusti 2007 skickades sammanlagt 4731 blodprov för malariamikroskopi till parasitlaboratoriet vid Karolinska universitetssjukhuset, Solna. Ett slumpmässigt urval av 635 blodprov gjordes och analyserades med både mikroskopi och snabbtest. Proven hade tagits från resenärer som inkommit till sjukhusets akutmottagning, vårdavdelningar och öppenvårdsmottagningar samt från kliniker utanför sjukhuset, inkluderande patienter under behandling och med tidigare diagnostiserad malaria genom det aktuella laboratoriet.

EDTA-rör med 5 ml blod samlades in och skickades för analys inom 1 timme. På laboratoriet deltog fyra erfarna biomedicinska analytiker (BMA) i analysarbetet. Tjock droppe och tunt utstryk förbereddes från EDTA-antikoagulerat venöst blod. Mikroskopin gjordes av en BMA, och malariasnabbtestet genomfördes utan kännedom om resultatet från mikroskopin, dvs blindat förfarande.

Mikroskopin innebar analys av Fields- eller Giemsa-färgad tjock droppe och tunt utstryk. Eventuell parasitemi registrerades som en procentandel av infekterade erythrocyter. Varje Fields- eller Giemsa-färgad tjock droppe kontrollerades vid 1250 gångers förstoring, och testresultatet betraktades som negativt om inga malariaparasiter påträffades efter minst 30 minuters sökning (motsvarar 200 oljeimmersionsfält). För varje positiv tjock droppe analyserades tillhörande tunna blodutstryk för att identifiera Plasmodium-species.

Snabbtesten användes enligt tillverkarens anvisningar; 10–20 µl blod applicerades i provdynan och 2 droppar av en förtunnande buffert applicerades under provdynan. På andra si-

### »Snabbtesten gav positivt resultat i 84 av 86 (sensitivitet 97,7 procent) mikroskopiskt bekräftade P falciparum-prov...«

dan av testkortet placerades 4 droppar av samma buffert. Blodet tilläts nå toppen av remsan för att sedan stängas. Efter 5–10 minuter var testresultatet synligt genom ett fönster.

MalaQuick (R-Biopharm AG, Darmstadt, Tyskland) användes för att analysera de 398 proven som togs under perioden augusti 2000 till och med september 2004, och NOW Malaria (Binax, Inc, Scarborough, Maine, USA) användes för att testa de 237 prov som togs under perioden oktober 2004 till och med augusti 2007 (MalaQuick tillhandahölls inte längre i Sverige).

Båda testen är immunkromatografiska analyser, som upptäcker både det histidinrika protein 2 (HRP-2)-antigenet hos P falciparum och pan-Plasmodium-antigenet aldolas. Antikroppar mot dessa antigener har immobiliserats på en testremsa. Ett positivt testresultat består av två eller tre synliga linjer; en som är en kontrollinje och två som är testlinjer (en som indikerar förekomst av HRP-2 och en som indikerar aldolas). De två testen skiljer sig åt endast vad gäller buffertinnehåll – MalaQuick innehöll en fosfatbuffert, medan det ingår en trisbuffert i NOW Malaria. Eftersom testen är så pass lika, har vi valt att presentera deras diagnostiska prestanda tillsammans.

### RESULTAT

Sammanlagt 134 individuella blodprov (21 procent) testades positivt för malaria vid mikroskopi. Av proven togs 40 procent från kvinnliga resenärer. Resenärernas medelålder var 33 år (1–63 år).

Snabbtesten gav positivt resultat i 84 av 86 (sensitivitet 97,7 procent) mikroskopiskt bekräftade P falciparum-prov (Tabell I). De två prov som var positiva i mikroskopi men negativa i snabbtesten analyserades även med PCR (polymeraskedjereaktion) [10], som kunde bekräfta förekomst av P falciparum. Parasitemin var låg i båda proven, <0,1 procent.

De 15 prov som var positiva för P falciparum i snabbtesten

### ■ SAMMANFATTAT

**Snabbtest** för diagnostik av malaria har blivit ett värdefullt hjälpmedel i både endemiska och icke-endemiska områden.

**Två test**, MalaQuick och NOW Malaria, har utvärderats vid ett parasitlaboratorium på universitetssjukhus.

**Sensitiviteten** för Plasmodium falciparum var 97,7 pro-

cent (84/86 prov) med ett negativt prediktivt värde på 99,6 procent.

**För icke-falciparum-species** var sensitiviteten endast 58,3 procent (28/48 prov).

**Vi rekommenderar** användning av snabbtest (NOW Malaria) som komplement till mikroskopi.

**TABELL I.** Bedömning av de snabbdiagnostiska testen MalaQuick och NOW Malaria. (Referensmetod: mikroskopi [tjock droppe och tunt utstryk].)

	P falciparum	P vivax, P ovale, P malariae
Sensitivitet	97,7 % (84/86)	58,3 % (28/48)
Specificitet	97,3 % (534/549)	99,7 % (585/587)
Positivt prediktivt värde	84,8 % (84/99)	93,3 % (28/30)
Negativt prediktivt värde	99,6 % (534/536)	96,7 % (585/605)

men negativa i mikroskopi togs från patienter som redan hade behandlats för malaria under de föregående 2–8 dagarna. Detta bekräftade att parasitantigen fanns kvar i perifert blod.

Till skillnad från den höga sensitiviteten för P falciparum var snabbtestens förmåga att upptäcka icke-falciparum-species mycket lägre: av 48 parasitologiskt bekräftade prov (34 P vivax, 8 P ovale, 6 P malariae) testades 28 positivt, vilket motsvarar en sensitivitet på 58,3 procent (Tabell I och II).

De 2 prov som testades positivt för icke-falciparum-malaria i snabbtest men befanns vara negativa i mikroskopi var även negativa i PCR-analysen. Ett av dessa prov hade tagits från en 70-årig kvinna med lymfom med en generaliserad mykobakteriell infektion. Kliniska data saknas för det andra provet.

Av de 20 icke-falciparum-prov där resultatet var negativt med snabbtest men positivt med mikroskopi analyserades 5 även med PCR, som bekräftade resultatet av den mikroskopiska undersökningen.

Sensitiviteten, specificiteten liksom de positiva och negativa prediktiva värdena för snabbtesten vad gäller P falciparum respektive icke-falciparum-malaria visas i Tabell I.

## DISKUSSION

Denna studie, som under 7 år genomförts i ett laboratorium på ett universitetssjukhus, visar att snabbtest för att upptäcka malariaparasiter är mycket pålitliga när det gäller P falciparum – sensitiviteten för detta species var 97,7 procent med ett negativt prediktivt värde av 99,6 procent. Å andra sidan var sensitiviteten för icke-falciparum-malaria mycket lägre; endast 58,3 procent. Detta kan anses vara acceptabelt, eftersom en snabb diagnos av en potentiellt dödlig P falciparum-infektion är den viktigaste delen vid diagnostik av malaria.

Våra resultat gällande P falciparum är i linje med tidigare studier av NOW Malaria [2–8], men förmågan hos MalaQuick och NOW Malaria att detektera icke-falciparum-species var låg. En delförklaring kan vara att 16,7 procent av våra icke-falciparum-fall var P ovale, ett malariaspecies för vilket snabbtestens sensitivitet är lägre än för P vivax [3, 4, 9].

Användning av testet NOW Malaria har studerats direkt på akutmottagningar och på laboratorier i en dansk multicenterstudie [5]. Jämfört med biomedicinska analytiker på laboratorier är personal på akutmottagningar mindre van att hantera analytiska test. I Danmark var snabbtestets sensitivitet för P falciparum 88 procent bedside jämfört med 95 procent på laboratorierna, och man måste därför tolka de negativa resultaten (erhållna bedside) med större försiktighet [5]. Att utföra

**»Ett positivt test för P falciparum betyder att läkaren snabbt får ett analysvar, vilket kan vara mycket värdefullt i allvarliga fall.«**

**TABELL II.** Detektion av P vivax, P ovale och P malariae: jämförelse mellan snabbtest och mikroskopi.

Snabbdiagnostiskt test	Direktmikroskopi		Summa
	Positivt	Negativt	
Positivt	28	2	30
Negativt	20	585	605
Summa	48	587	635

testen direkt på akutmottagningar är dock värdefullt som ett komplement nattetid och under helger. Fortbildning av vårdpersonal är viktig så att snabbtest kan fås att fungera även i dessa miljöer.

Vi använde PCR för att bekräfta negativa resultat från den mikroskopiska undersökning i prov där snabbtestet var falskt positivt. Att bekräfta samtliga testresultat med PCR hade varit idealiskt men var tyvärr omöjligt. Tekniken fanns inte på vårt laboratorium före 2001, och metoden är relativt tidskrävande och kostsam. Vi bedömer att falskt negativa resultat i både mikroskopi och snabbtest inte har förekommit på vårt laboratorium, eftersom vi inte registrerade några missade malariafall under de 7 år som studien pågick och infektions- och barnklinikerna vid vårt sjukhus är de enda instanserna för malariabehandling i upptagningsområdet.

Malaria-PCR är ingen vanligt förekommande analysmetod i Sverige. I dag finns tekniken tillgänglig på ett fåtal universitetslaboratorier, medan misstänkta malariafall omhändertas på de drygt 25 svenska infektionsklinikerna samt på landets barnkliniker. PCR rekommenderas som en bekräftande analysmetod i de fall då det är svårt att fastställa malariaspecies eller då man misstänker blandinfektion med flera species.

P knowlesi, ett apmalariaspecies som nyligen befunnits vara patogen för människor och som till och med förorsakat dödsfall, har inte inkluderats i de studier som undersökt snabbtestens prestanda. NOW Malaria upptäckte inte en P knowlesi-infektion hos en svensk resenär från Malaysia med en parasitemi på 0,1 procent [11]. Användning av snabbtest för att diagnostisera P knowlesi måste utvärderas [12, 13]. Dessa resultat understryker vikten av att mikroskopera vid alla fall av misstänkt malaria.

Det har nyligen visats att en stor andel av P falciparum-isolaten i Amazonas-delen av Peru saknar HRP-2, vilket innebär att snabbtest som påvisar HRP-2 inte kan påvisa P falciparum [14]. Rapporten visar att det nu är nödvändigt att jämföra analysresultaten av olika snabbtest, som använder skiftande målantigener. Detta bör göras både i endemiska områden och hos resenärer.

Baserat på dess utmärkta förmåga att upptäcka P falciparum-infektioner rekommenderar vi att NOW Malaria används som komplement till mikroskopi på laboratorier. Ett positivt test för P falciparum betyder att läkaren snabbt får ett analysvar, vilket kan vara mycket värdefullt i allvarliga fall. Laboratoriet kan även använda testet som ett diagnostiskt hjälpmedel när det föreligger svårigheter med speciesbestämningen.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

## REFERENSER

1. Epidemiologisk årsrapport 2009. Stockholm: Smittskyddsinstitutet; 2010. p. 36.
2. Wongsrichanalai C, Arevalo I, Laoboonchai A, Yingyuen K, Miller RS, Magill AJ, et al. Rapid diagnostic devices for malaria: field evaluation of a new prototype immunochromatographic assay for the detection of Plasmodium falciparum and non-falciparum Plasmodium. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;69:26–30.
3. Farcas GA, Zhong KJ, Lovegrove FE, Graham CM, Kain KC. Evalu-

- ation of the Binax NOW ICT test versus polymerase chain reaction and microscopy for the detection of malaria in returned travelers. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;69:589-92.
4. Durand F, Crassous B, Fricker-Hidalgo H, Carpentier F, Brion JP, Grillot R, et al. Performance of the Now Malaria rapid diagnostic test with returned travellers: a 2-year retrospective study in a French teaching hospital. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11:903-7.
  5. Wiese L, Bruun B, Baek L, Friis-Møller A, Gahrn-Hansen B, Hansen J, et al. Bedside diagnosis of imported malaria using the Binax Now malaria antigen detection test. *Scand J Infect Dis.* 2006;38:1063-8.
  6. Gatti S, Gramegna M, Bisoffi Z, Raglio A, Gulletta M, Klersy C, et al; Gispi Study Group. A comparison of three diagnostic techniques for malaria: a rapid diagnostic test (NOW Malaria), PCR and microscopy. *Ann Trop Med Parasitol.* 2007;101:195-204.
  7. Cuadros J, Martín-Rabadán P, Merino FJ, Delgado-Iribarren A, García-Bujalance S, Rubio JM. Malaria diagnosis by NOW ICT and expert microscopy in comparison with multiplex polymerase chain reaction in febrile returned travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26:671-3.
  8. Stauffer WM, Cartwright CP, Olson DA, Juni BA, Taylor CM, Bowers SH, et al. Diagnostic performance of rapid diagnostic tests versus blood smears for malaria in US clinical practice. *Clin Infect Dis.* 2009;49:908-13.
  9. Bigaillon C, Fontan E, Cavallo JD, Hernandez E, Spiegel A. Ineffectiveness of the Binax NOW malaria test for diagnosis of Plasmodium ovale malaria. *J Clin Microbiol.* 2005;43:1011.
  10. Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE, et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol.* 1993;61:315-20.
  11. Bronner U, Divis PCS, Färnert A, Singh B. Swedish traveller with Plasmodium knowlesi malaria after visiting Malaysian Borneo. *Malar J.* 2009;8:15. doi:10.1186/1475-2875-8-15.
  12. van Hellemond JJ, Rutten M, Koelewijn R, Zeeman AM, Verweij JJ, Wismans PJ, et al. Human Plasmodium knowlesi infection detected by rapid diagnostic tests for malaria. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1478-80.
  13. Kawai S, Hirai M, Haruki K, Tanabe K, Chigusa Y. Cross-reactivity in rapid diagnostic tests between human malaria and zoonotic simian malaria parasite Plasmodium knowlesi infections. *Parasitol Int.* 2009;58:300-2.
  14. Gamboa D, Ho MF, Bendezu J, Torres K, Chiodini PL, Barnwell JW, et al. A large proportion of P. falciparum isolates in the Amazon region of Peru lack pfhrp2 and pfhrp3: implications for malaria rapid diagnostics tests. *PLoS One.* 2010;5(1):e8091. Doi:10.1371/journal.pone.0008091.

## Fortsätt diskutera!

Alla artiklar kan kommenteras på [Lakartidningen.se](http://Lakartidningen.se)

Utmanande saklig

Läkartidningen