

<https://helda.helsinki.fi>

Nukleiinihaponositustestillä nopeaa ja luotettavaa malariadiagnostiikkaa

Aho-Laukkanen, Elina

2021

Aho-Laukkanen , E , Holma , P , Kauranen , J , Kerttula , A-M , Simola , L , Kauma , H & Höökkö , S 2021 , ' Nukleiinihaponositustestillä nopeaa ja luotettavaa malariadiagnostiikkaa ' , Duodecim , Vuosikerta. 137 , Nro 2 , Sivut 187-191 . < <https://www.duodecimlehti.fi/xmedia/duo/duo16022.pdf> >

<http://hdl.handle.net/10138/339445>

publishedVersion

Downloaded from Helda, University of Helsinki institutional repository.

This is an electronic reprint of the original article.

This reprint may differ from the original in pagination and typographic detail.

Please cite the original version.

Elina Aho-Laukkanen, Pia Holma, Jari Kauranen, Anne-Marie Kerttula, Lotta Simola,
Heikki Kauma ja Sohvi Hörkkö

Nukleiinihaponosoitustestillä nopeaa ja luotettavaa malariadiagnostiikkaa

Kun potilas on palannut tropiikista ja malariaepäily herää, diagnostiikan kultastandardina on veren siveilyvalmisteiden mikroskopointi. Laadukasta ja luotettavaa mikroskopointidiagnostiikkaa on taudin harvinaisuuden vuoksi kuitenkin vaikeaa tarjota päivystyksellisesti osassa suomalaisista sairaaloista. Laajalti käytössä olevan immunokromatografisen pikatestin herkkyyks ei riitä luotettavasti sulkemaan pois malariaa. Siksi NordLab Oulussa otettiin käyttöön kaupallinen nukleiinihaponosoitustesti päivystykselliseen malariadiagnostiikkaan. Uuden testin käyttöönoton myötä pikatestin käytöstä ja NordLab Oulussa suoritetusta mikroskopoinnista luovuttiin. Esittelemme NordLab Oulun muuttunutta malariadiagnostiikkaa ja kaksi ensimmäistä nukleiinihaponosoitustestillä todettua malariapotilasta. Kahden vuoden käyttökemuksen perusteella nukleiinihaponosoitustesti on osoittautunut herkäksi ja toimivaksi menetelmäksi malarian päivystysdiagnostiikassa.

Malaria on 2000-luvulla ollut harvinainen vieras Suomessa, mutta maailmanlaajuisesti tauti on säilynyt merkittävänä tappajana. Sen aiheuttaa *Plasmodium*-sukuun kuuluva alkueläin, joka infektoi ihmisen punasoluja. Viiden *Plasmodium*-lajin on tunnistettu infektoivan ihmistä: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* ja *P. knowlesi*. Tartunta saadaan alkueläintä kantavien *Anopheles*-hyttysten pistosta.

Tyypilliset oireet eli sahaava kuume, lihaskivut ja maha-suolikanavan oireet tropiikista palaamisen jälkeen herättävät epäilyn malariasta. Malariadiagnostiikan kulmakivenä on ääreisveren paksupisara- ja siveilyvalmisteiden mikroskopointi. Se on tutkimuksena herkkä ja halpa, mutta vaatii kokeneen mikroskopioijan. Taidon ylläpitämiseen tarvitaan positiivisten ja negatiivisten näytteiden toistuvaa tarkastelua.

Oulun yliopistollisen sairaalan erityisvastuualue yltää Keski-Pohjanmaalta pohjoisimpaan Lappiin. Oulun yliopistollisessa sairaalassa diagnosoidaan vuosittain muutama malariatapaus ja epäillään muutamaa kymmentä. Malarian päivystysdiagnostiikka perustui aikaisemmin antigeniosoitukseen immunokromatografisel-

la OptiMAL-IT-pikatestillä. Kaikki värjäyslasit mikroskopointiin arkipäivisin NordLab Oulun hematologian laboratoriossa. Tarvittaessa erillispyynnöstä värjäyksiä pyrittiin mikroskopioimaan myös päivystysaikaan Oulussa. Siveilyvalmisteista arvioitiin karkeasti parasitemiaa, mutta positiivisten näytteiden tarkempi parasitemian ja *Plasmodium*-lajin määrittäminen tapahtui HUSLABin parasitologian laboratoriossa Helsingissä.

Malariatutkimusprosessia oli tarve muuttaa, koska värjäysten luotettavaan tulkitsemiseen vaadittavan erityisosaamisen ylläpito ei ollut vähäisen näytemäärän vuoksi mahdollista. Lisäksi pikatestin herkkyyks ei riittänyt sulkemaan pois malariaa, eikä testi tunnista ihmistä infektoivista lajeista *P. knowlesia*, joka voi olla yhtä vaarallinen taudinaiheuttaja kuin *P. falciparum*. Eri tutkimusten perusteella testin herkkyyks on 80–89 % ja tarkkuus 91–97 % verrattuna mikroskopointiin (1,2).

Koska immunokromatografisen pikatestin negatiivinen tulos ei ole luotettava, vahvan malariaepäilyn yhteydessä ohjeistettiin aloittamaan näytteenoton jälkeen suonensisäinen artesunaatti pikatestin tuloksesta riippumatta.

Ydinasiat

- ▶ Malaria on Suomessa harvinainen tauti, joka voi diagnoosin ja hoidon viivästyessä olla tappava.
- ▶ Tavanomainen diagnostiikka perustuu mikroskopointiin, jonka osaamisen ylläpitäminen on vaikeaa, jos positiivisia näytteitä on vähän.
- ▶ Nukleiinihappopohjainen menetelmä on tuonut päivystykselliseen malariadiagnostiikkaan herkkyyttä ja nopeutta.
- ▶ Mikroskopointia tarvitaan edelleen lajin ja parasitemian määrittämiseen.

Nukleiinihapon osoitukseen perustuva malariadiagnostiikka

Nopean ja luotettavan malariadiagnostiikan takaamiseksi tarvittiin herkempi ja vähemmän parasitologian erikoisosaamista vaativa tutkimusmenetelmä. Siksi NordLab Oulun päivystyslaboratoriossa otettiin joulukuussa 2018 ympärivuorokautiseen käyttöön Alethia Malaria -nukleiinihaponosoitus (NhO) -testi, jonka aikaisempi nimi on Illumigene Malaria. Menetelmä perustuu silmukavälitteiseen isotermaaliseen DNA:n monistukseen (loop-mediated isothermal DNA amplification, LAMP).

LAMP-menetelmässä nukleiinihappojen monistus tapahtuu isotermaalisesti ilman lämpötilojen vaihtelua, toisin kuin PCR-menetelmässä, jossa lämpötilaerot monistumisen eri vaiheissa ovat oleellinen osa reaktiota. LAMP-menetelmä ei vaadi toimiakseen monimutkaista teknologiaa, vain lämpöblokin tai vesihauteen vakiolämpötilassa. LAMP-monistuksessa DNA-polymeraasi aloittaa itsestään jatkuvan synteessin, jossa 4–6 aluketta muodostavat silmukkarakenteita ja kohdistuvat kuuteen tai kahdeksaan alueeseen monistuksen kohteena olevassa sekvenssissä (3,4).

LAMP-menetelmän herkkyyden malariadiagnostiikassa on raportoitu vastaavan tutkimuksessa referenssimenetelmänä käytetyn nested-PCR:n herkkyyttä (5). Alethia Malaria -testissä monistuksen kohteena on 214 emäsparin pituinen kohde-DNA, joka sijaitsee *Plas-*

modium-lajin konservoituneella mitokondriaalisen DNA:n ei-koodaavalla alueella. Testi on nopea ja yksinkertainen suorittaa, joten se sopii päivystysdiagnostiikkaan.

Alethia Malaria -testi tunnistaa kaikki viisi ihmistä infektoivaa *Plasmodium*-lajia. Testin dektektioaraja on valmistajan mukaan kaksi *P. falciparum* -lajin ja 0,125 *P. vivax* -lajin loista mikrolitrassa (µl) verta. Valmistajan mukaan menetelmän herkkyys mikroskopointiin verrattuna on 100 % (95 %:n luottamusvälillä 97,3–100,0 %) ja tarkkuus 89,3 % (80,3–94,5 %) (6). Toisessa julkaisussa testin herkkyys mikroskopointiin verrattuna oli 97,3 % (90,7–99,7 %) ja tarkkuus 93,8 % (84,8–93,8 %) (7). PCR-menetelmään verrattuna testin herkkyydeksi on saatu 97,2 % (92,6–99,1 %) ja tarkkuudeksi 93,8 % (84,2–98,0 %) (8).

Alethia Malaria -NhO-menetelmässä hajotetaan etyleenidiamiinitetraattikahappo (EDTA) -kokoverestä ensin solut kemiallisesti nukleiinihappojen eristämiseksi. Tämän jälkeen nukleiinihapot monistetaan isotermaalisesti 63 °C:ssa. NordLab Oulussa käytössä olevalla inkubaattorilla (lukijalla) voidaan ajaa kymmenen näytettä samassa ajossa. Laite tunnistaa monistuksen sivutuotteena muodostuvan magnesiumpyrofosfaatin aiheuttaman samentumisen näyteputkessa ja antaa kvalitatiivisen tuloksen (positiivinen, negatiivinen, epäonnistunut). NhO-testin tulos valmistuu alle 50 minuutissa näytteen saapumisesta laboratorioon.

NordLabin malariaplasmoditutkimukseen (B-Plas-O) kuuluu osatutkimuksena päivystyksellinen NhO-testi (B-PlasNhO) sekä arkipäivisin HUSLABissa tehtävä sively- ja paksupisaravalmisteiden mikroskopointi (B-Plas-O). Mikroskopoimalla arvioidaan *Plasmodium*-laji sekä parasitemia. Kaikista B-Plas-O-tutkimuspyynnöillä otetuista näytteistä tehdään NhO-testi NordLab Oulun päivystyslaboratoriossa. Toistaiseksi jokaisesta näytteestä, riippumatta NhO-testin tuloksesta, lähetetään lisäksi kolme sively- ja paksupisaravalmistetta mikroskopoitavaksi HUSLABiin testin lyhytaikaisen käyttökokemuksen vuoksi. NhO-testitulokset vastataan ympärivuorokautisesti ja mikroskopointivastaus saadaan arkipäivisin HUSLABista.

Nukleiinihapon osoitukseen perustuvan

diagnostiikan käyttöönoton myötä NordLab Oulussa ei enää käytetä immunokromatografista pikatestiä. Lapin ja Keski-Pohjanmaan keskussairaaloissa on vielä jatkettu pikatestin ja mikroskopoinnin käyttöä muun muassa logistisista syistä. Sen sijaan muista alueemme keskus- ja aluesairaaloista lähetetään malaria-näytteet NordLab Ouluun NhO-testiä varten.

Omat potilaat

Esittelemme kaksi ensimmäistä LAMP-menetelmällä Oulun yliopistollisessa sairaalassa todettua malariapotilasta. Heidän mikroskoopi- ja nukleiinihaponsoitustuloksensa esitetään **TAULUKOSSA**.

Potilas 1. OYS:n päivystyspoliklinikkaan tuli aiemmin terve 49-vuotias nainen, joka oli kotoisin Keniasta. Potilas oli tullut Suomeen työmatkalle ja ehtinyt olla viikon perillä. Hän oli sairastanut malarian oireisena viimeksi 15 vuotta aiemmin.

Ennen sairaalaan saapumista potilaalla oli ollut kahden päivän ajan korkeaa kuumetta, ripulia, oksentelua ja nivelkipuja. Potilasta tutkittaessa todettiin ainoana löydöksenä vasemmassa olkavarressa pieni, aristava mustelma. Hemodynamiikka oli stabiili korkeasta kuumeesta (39,2 °C) huolimatta.

Laboratoriokokeissa mitattiin hemoglobiinipitoisuudeksi 120 g/l (viiteväli 117–155 g/l) ja leukosyyttimääräksi $4,8 \times 10^9/l$ ($3,4\text{--}8,2 \times 10^9/l$). Lisäksi todettiin trombosytopenia, $92 \times 10^9/l$ ($150\text{--}360 \times 10^9/l$) ja valkosolujen erittelylaskennassa lievä lymfosytopenia, $0,7 \times 10^9/l$ ($1,2\text{--}3,5 \times 10^9/l$). CRP-pitoisuus oli suurentunut, 109 mg/l (< 10 mg/l), samoin laktatiididehydrogenaasipitoisuus, 285 U/l (105–205 U/l).

Suonensisäinen artesunaattilääkitys päätettiin aloittaa potilaan kliinisen taudinkuvan ja vahvan malariaepäilyn vuoksi ilman laboratorion malaria-vastausta. Kahden tunnin kuluttua näytteenotosta B-PlasNhO-tutkimus vastattiin kuitenkin positiiviseksi, mikä vahvisti päivystäjän työdiagnoosin ja hoitopäätöksen. Artesunaattiansos uusittiin 12 ja 24 tunnin kuluttua ensimmäisestä annoksesta. Viimeisen annoksen jälkeen siirryttiin suun kautta otettavaan artemeetteri-lumefantriinihoitoon.

Toisena hoitopäivänä potilaan näkö sumentui. Silmäluomet ja sidekalvot olivat voimakkaasti turvonneet, minkä arvioitiin osaltaan selittävän näköoireita. Pään magneettikuvauksessa todettiin molemmiin puolisiin aivoaineissa malarian aivovaurioon sopivat löydökset. Neljäntenä hoitopäivänä saatiin HUSLABista mikroskoopiin perustuva alustava lajinnäytös: *P. vivax* tai *P. ovale*. Vastaus oli yllättävä, koska toisin kuin *P. falciparum* nämä lajit eivät yleensä aiheuta aivomalariaa.

B-PlasNhO-tutkimustulos oli edelleen positiivinen, ja tulevaa viikonloppua vasten artemeetteri-lumefantriinihoitoa päädyttiin jatkamaan viiden vuorokauden ajaksi normaalin kolmen vuorokauden

sijasta. Potilaan vointi koheni, ja jatkohoidoksi *P. vivax*- tai *P. ovale*-lajien mahdollisten maksamuotojen häätämiseksi potilas sai vielä 14 vuorokauden mittaisen primakiinikuurin.

Potilaan jo kotiututtua saatiin referenssilaboratorion (HUSLAB) PCR-tulokset, joiden mukaan potilaalla oli sairaalaantulovaiheessa veressään sekä *P. falciparum*- että *P. ovale*-lajit.

Potilas 2. Päivystyspoliklinikkaan tuli sahaavan kuumeen, yskän sekä rint- ja vatsakivun vuoksi 53-vuotias perusterve mies. Mies oli asunut vuosia Suomessa, mutta oli kolme viikkoa aiemmin palannut viiden viikon vierailulta kotiseudultaan Ugandasta. Matkan aikana hän oli käynyt lääkärissä kuumeen vuoksi ja saanut tablettilääkityksen malariaan.

Tulovaiheessa todettiin korkea kuume, 39 °C, jonka aikana syke oli tihentynyt, nopeimmillaan 108/min. Potilaan hemodynamiikka oli stabiili ja yleistila hyvä. Silmien sidekalvot olivat lievästi keltaiset.

Laboratoriokokeissa todettiin anemia (hemoglobiinipitoisuus 120 g/l, viiteväli 134–167 g/l), trombosytopenia ($89 \times 10^9/l$, viiteväli $150\text{--}360 \times 10^9/l$) sekä selkeä lymfosytopenia ($0,3 \times 10^9/l$, viiteväli $1,2\text{--}3,5 \times 10^9/l$). CRP-pitoisuus oli suurentunut, 85 mg/l (< 10 mg/l), ja suureni kolmantena hoitopäivänä huippuunsa, lukuun 195 mg/l. Kreatiniinipitoisuus oli normaali ja bilirubiinipitoisuus lievästi suurentunut ($70 \mu\text{mol/l}$, viitearvo < $25 \mu\text{mol/l}$). B-PlasNhO-tutkimus vastattiin positiiviseksi potilaan ollessa päivystyksessä.

Potilaalle aloitettiin suonensisäinen artesunaattilääkitys annoksella 2,4 mg/kg, joka toistettiin 12 ja 24 tunnin kuluttua. Kuumeilu loppui 24 tunnin kuluessa lääkityksen aloituksesta. Jatkohoidoksi potilas sai kolmen vuorokauden artemeetteri-lumefantriinikuurin.

Viidentenä hoitopäivänä saatiin HUSLABista B-PlasO-tutkimuksen vastaukseksi *P. falciparum*, parasitemia-asteeksi ilmoitettiin 1,8 %. B-PlasNhO-määritys pysyi positiivisena vielä seitsemän vuorokautta hoidon aloituksen jälkeen, sen sijaan mikroskoopi- vastaus oli negatiivinen jo kahden hoitovuorokauden jälkeen. Laboratoriokokeet normaalistuivat sairaalahoidon aikana lukuun ottamatta hemoglobiinipitoisuutta, joka jäi pieneksi (114 g/l).

TAULUKKO. Potilaidemme 1 ja 2 mikroskopointi- ja nukleiinihaponosoitustulokset.

Tapaus	Näytteenotto-päivä	NordLab: B-PlasNhO (LAMP-testi)	Huslab: B-Plas-O (mikroskopointi tai paksu-pisara- ja siveilyvalmisteet)	Huslab: B -PlasNhO (PCR-menetelmä)
Potilas 1	1	Positiivinen	<i>Plasmodium</i> -laji Lausunto: Värjäyksessä näkyi rengasmuotoja sekä <i>P. ovaleen</i> tai <i>P. vivaxiin</i> sopiva kantasukusolu. Rengasmuodoista ei varmuudella voinut päätellä lajia. Parasitemia-aste yhteensä < 0,1 %.	<i>P. ovale</i> <i>P. falciparum</i>
	2		<i>P. vivax</i> tai <i>P. ovale</i> Lausunto: näytteessä trofotsoitteja ja kantasukusoluja	Ei tutkittu
	3		Negatiivinen Lausunto: näytteen paksupisaroista ja siveilyvalmisteista ei löytynyt yhtään plasmodia	<i>P. falciparum</i> Lausunto: nukleiinihaponosoituksella voitiin osoittaa niukasti <i>P. falciparumin</i> DNA:ta
	4	Negatiivinen	Negatiivinen	Ei tutkittu
	5			
	6			
Potilas 2	1	Positiivinen	<i>P. falciparum</i> Rengasmuotoja, parasitemia-aste 1,8 %	<i>P. falciparum</i>
	2		<i>P. falciparum</i> Rengasmuotoja, parasitemia-aste 0,7 %	Ei tutkittu
	3		Negatiivinen Mikroskooppisesti ei malariaplasmodeja	
	4	Negatiivinen	Negatiivinen	
	5			
	8			

Pohdinta

Nukleiinihappopohjainen diagnostiikka on lisännyt malarian diagnosoinnin herkkyyttä verrattuna immunokromatografiseen pikatestiin. Samalla NordLab Oulussa on luovuttu malaria-näytteiden mikroskopoinnista kokonaan. Siveily- ja paksupisaravalmisteet lähetetään Oulusta NhO-testin tuloksesta riippumatta mikroskopoitaviksi HUSLABiin lajin ja parasitemian määrittämiseksi.

Lajinmääritys vaikuttaa jatkohoitoon, sillä esimerkiksi *P. vivax*- ja *P. ovale* -lajien maksamuotojen häätöhoitoon käytetään 14 vuorokauden primakiinilääkitystä alkuvaiheen artemisiinipohjaisen hoidon lisäksi. Koska tietoa parasitemialukemista ei saada päivystyksellisesti, aloitetaan suonensisäinen artesunaattihoito aina, kun NhO-testitulokset on positiivinen, tau-

din vaikeudesta riippumatta.

Vaikka parasitemia vastataan vain arkipäivisin, on tiedolla usein merkitystä jatkoseurannan kannalta. Toistaiseksi potilaasta otetaan yleensä useampi näyte, vaikka ensimmäisen näytteen NhO-tulos olisi negatiivinen. Kanadalaistutkimuksen kustannusanalysissä säästöjä syntyi malariatutkimusprosessin muutoksella, jonka myötä yksi LAMP-testin perusteella negatiivinen näyte riittää poissulkemaan malarian (7). Kustannukset vähenivät verrattuna työnkulumalliin, jossa kolme näytettä mikroskopoidaan ja tutkitaan pikatestillä.

Kustannusten ja työvoimaresurssien säästämiseksi jatkossa jääkin pohdittavaksi, riittäisikö yksi NhO-negatiivinen tulos sulkemaan pois malarian ja vain positiivisten näytteiden lähet-

täminen referenssilaboratorioon mikrosko-
poitavaksi. Päätöstä varten tarvitaan kuitenkin
lisää näyttöä LAMP-testin toimivuudesta rutii-
nidiagnostiikassa.

Joulukuusta 2018 toukokuun 2020 alkuun
NhO-testillä tutkittiin NordLabissa yhteensä
138 potilasnäytettä. Kaikkien näytteiden lä-
hettämistä referenssilaboratorioon (HUSLAB)
puoltaa lisäksi se, että B-Plas-O-mikroskopoin-
nilla voidaan sivulöydöksenä löytää muita veri-
loisia, esimerkiksi borrelioita ja trypanosomia.

Lopuksi

Alethia Malaria -NhO-testiä on käytetty
OYS:ssa vasta kahden vuoden verran, ja positiiv-
isen tuloksen on saanut kolme potilasta, joten
muuttunut laboratoriodiagnostiikka ei vielä ole
muuttanut OYS-erva-alueen hoitosuosituksia.
Vahvan kliinisen malariaepäilyn yhteydessä

suositellaan edelleen suonensisäisen artesu-
naattilääkityksen aloittamista, vaikka ensim-
mäinen NhO-tulos olisikin negatiivinen.

Potilastapaustemme perusteella olemme ha-
vainneet, että testi on hyvin herkkä ja NhO-tulos
säilyy positiivisena useita päiviä sen jälkeen, kun
oireet ovat jo helpottaneet ja mikroskopointitu-
los kääntynyt negatiiviseksi. Siksi NhO-testiä ei
voida käyttää ainoana diagnostisena tutkimukse-
na hoidon tehon seurannassa.

Malaria on mahdollisesti tappava tauti, jonka
diagnosointi ja hoitaminen eivät saa viivästyä.
Alethia Malaria -NhO-testi on osoittautunut
toimivaksi diagnosointivälineeksi alueellamme,
jolla malarialöydökset ovat harvinaisia, riittä-
vän mikroskopointitaidon säilyttäminen on
osoittautunut vaativaksi eikä immunokroma-
tografinen pikatesti ole ollut tarpeeksi herkkä
sulkemaan malariaa pois. ■

ELINA AHO-LAUKKANEN, FL, sairaalamikrobiologi
Kliininen mikrobiologia, NordLab

**PIA HOLMA, LL, sisätautien ja infektiosairauksien
erikoislääkäri**
Oulun yliopistollinen sairaala, infektioiden torjuntayksikkö

**JARI KAURANEN, LL, kliinisen mikrobiologian
erikoislääkäri**
Kliininen mikrobiologia, NordLab

ANNE-MARIE KERTTULA, FT, sairaalamikrobiologi
Kliininen mikrobiologia, HUSLAB

**LOTTA SIMOLA, LL, sisätautien ja infektiosairauksien
erikoislääkäri**
Oulun yliopistollinen sairaala, infektioiden torjuntayksikkö

**HEIKKI KAUMA, dosentti, sisätautien ja
infektiosairauksien erikoislääkäri, osastonylilääkäri**
Oulun yliopistollinen sairaala, medisiininen tulosalue,
infektiosairauksien toimiala

**SOHVI HÖRKKÖ, professori, kliinisen mikrobiologian
erikoislääkäri**
Oulun yliopisto, lääketieteellisen tiedekunnan
biolääketieteen tutkimusyksikkö

VASTUUTOIMITTAJA
Seppo Meri

SIDONNAISUUDET
Elina Aho-Laukkanen: Korvaukset koulutus- ja kongressikuluista
(Lab quality Oy), hankkeet (Käypä hoito -työryhmän jäsen (Ihoinfekti-
ot))
Pia Holma: Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (MSD, GSK)
Jari Kauranen: Ei sidonnaisuuksia
Anne-Marie Kerttula: Ei sidonnaisuuksia
Lotta Simola: Korvaukset koulutus- ja kongressikuluista (Correvio)
Heikki Kauma: Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Terve Media Oy),
korvaukset koulutus- ja kongressikuluista (MSD)
Sohvi Hörkkö: Ei sidonnaisuuksia

KIRJALLISUUTTA

1. Ba H, Ahouidi AD, Duffy CW, ym. Evaluation of malaria rapid diagnostic test Optimal-IT pLDH along the Plasmodium falciparum distribution limit in Mauritania. *Bull Soc Pathol Exot* 2017;110:31–7.
2. Muhindo HK, Ilombe G, Meya R, ym. Accuracy of malaria rapid diagnosis test Optimal-IT in Kinshasa, the Democratic Republic of Congo. *Malar J* 2012;11:224.
3. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, ym. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 2000;28:E63.
4. Wong YP, Othman S, Lau YL, ym. Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of microorganisms. *J Appl Microbiol* 2018;124:626–43.
5. Polley SD, Gonzalez IJ, Mohamed D, ym. Clinical evaluation of a loop-mediated amplification kit for diagnosis of imported malaria. *J Infect Dis* 2013;208:637–44.
6. Meridian Bioscience Inc. Alethia: DNA amplification assays for the detection of Plasmodium sp [pakkauseloste]. Ref: 480925, 481125. https://meridianbioscience.com/uploads/480925-481125_pi.pdf.
7. Rypien C, Chow B, Chan WW, ym. Detection of Plasmodium infection by the illumigene malaria assay compared to reference microscopy and real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2017;55:3037–45.
8. Lucchi NW, Gaye M, Diallo MA, ym. Evaluation of the illumigene malaria LAMP: a robust molecular diagnostic tool for malaria parasites. *Sci Rep* 2016;6:36808.