



Chagatest HAI

screening A-V

Prueba de hemaglutinación indirecta para la detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*

SIGNIFICACION CLINICA

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria producida por el *Trypanosoma cruzi*. En la mayoría de los casos la enfermedad evoluciona hacia la fase crónica. El diagnóstico de laboratorio depende del estadio en el cual se encuentre la enfermedad. Durante la fase aguda, el diagnóstico se efectúa mediante la comprobación de los parásitos en sangre. Durante la fase crónica, se usan métodos serológicos como prueba de screening.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La hemaglutinación indirecta (HAI) se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos (que en este caso son anti-T. cruzi) de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del *Trypanosoma cruzi*. **Chagatest HAI screening A-V** utiliza glóbulos rojos de ave, que al ser de mayor tamaño que los de carnero, aceleran la visualización de la reacción.

Los anticuerpos interferentes, que pueden causar aglutinación inespecífica, se eliminan con el agregado de la solución proteica, la cual tiene inhibidores de los mismos.

REACTIVOS PROVISTOS

Antígeno HAI A-V: suspensión de glóbulos rojos de ave sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana de T. cruzi en buffer fosfatos con ClNa, 8,5 g/l y conservante < 0,1%.

Buffer HAI A-V: solución fisiológica (8,5 g/l ClNa) tamponada con fosfatos 20 mmol/l, pH 7,1 y conservante < 0,1%.

Solución Proteica A-V: solución de proteínas, 5 g/dl y conservante < 0,1%.

Control Positivo: suero inactivado conteniendo anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* y conservante < 0,1%.

Control Negativo: dilución de proteínas séricas no reactivas y conservante < 0,1%.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Antígeno HAI A-V: cada vez que se utilice debe homogeneizarse perfectamente por agitación, evitando la formación de espuma.

Diluyente de Sueros HAI A-V: agregar 0,2 ml de Solución Proteica A-V a 5 ml de Buffer HAI A-V. Mezclar, rotular y taponar.

Controles Positivo y Negativo: listos para usar.

PRECAUCIONES

- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Los controles se

encuentran inactivados. Sin embargo, deben emplearse como si se tratara de material infectivo.

- Los sueros controles han sido examinados para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg), anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (anti-HCV) y virus de inmunodeficiencia humana (HIV) encontrándose no reactivos.
- Todos los materiales empleados en el ensayo deben ser destruidos a fin de asegurar la inactivación de agentes patógenos. El método recomendado para este procedimiento es autoclavar durante 1 hora a 121°C. Los líquidos de desecho pueden ser desinfectados con hipoclorito de sodio (concentración final 5%) durante por lo menos 60 minutos.
- No intercambiar reactivos de distintos equipos y lotes.
- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

Una ligera turbidez u opalescencia en la Solución Proteica no altera la capacidad reaccionante de la misma.

Diluyente de Sueros HAI A-V: en refrigerador (2-10°C) es estable 24 horas a partir de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

- Cuando el Control Negativo y todas las diluciones de sueros son reactivas, puede ser indicio de autoaglutinación del Antígeno HAI A-V. Verificar destinando un pocillo de la policubeta para mezclar Antígeno HAI A-V y Diluyente de Sueros HAI A-V, sin la Muestra. Si aún en este caso se observa aglutinación, el reactivo estará deteriorado. Desechar.
- La ausencia de reactividad en todas las diluciones de sueros y el Control Positivo, puede ser indicio de deterioro de los reactivos.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: el paciente debe estar preferentemente en ayunas. Obtener suero de la manera usual. No usar plasma. Las muestras inactivadas por calor pueden provocar resultados falsos positivos.

b) Aditivos: no se requieren. No agregar conservadores.

c) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis o hiperlipemia (con quilomicronemia) son causas de resultados erróneos.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento, puede conservarse en el refrigerador (2-10°C) durante no más de 72-96 horas contadas a partir del momento de la extracción. Para períodos más prolongados de conservación, congelar (a -20°C), evitando reiterar tal procedimiento.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- Policubetas de 96 pocillos fondo en V.

2- No provisto

- Micropipetas capaces de medir los volúmenes indicados. Ver PROCEDIMIENTO.
- Tubos de hemólisis y material volumétrico adecuado.

PROCEDIMIENTO

Seleccionar una policubeta de pocillos de fondo en V sin usar. Pasar un paño húmedo por la base de la misma antes de usar y disponerla apaisada. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

I- PRUEBA CUALITATIVA

1- En un tubo de hemólisis colocar 400 ul de Diluyente de Sueros HAI A-V y adicionar 10 ul de suero o controles (dilución 1/40).

2- Colocar 50 ul de la dilución 1/40 de suero o controles en un pocillo de la policubeta y agregar 25 ul de Antígeno HAI A-V.

3- Mezclar aplicando suaves golpes en los laterales de la policubeta durante por lo menos 30 segundos.

4- Dejar en reposo, protegido de vibraciones durante 60 minutos a temperatura ambiente.

5- Leer a partir de los 60 minutos.

Puede aumentarse la nitidez de la apreciación, leyendo sobre un espejo, iluminando la placa desde arriba e interponiendo un papel blanco traslúcido entre la policubeta y la fuente de luz.

II- PRUEBA CUANTITATIVA

1- En una misma serie de 6 pocillos colocar 50 ul de Diluyente de Sueros HAI A-V en los pocillos 2, 3, 4, 5 y 6.

2- Pipetear 50 ul de la dilución 1/40 de suero o controles en los pocillos 1 y 2.

3- Transferir 50 ul del pocillo 2 al 3 y así sucesivamente, desechando 50 ul del último pocillo, evitando la formación de burbujas.

4- Homogeneizar por inversión el Antígeno HAI A-V.

5- Agregar a cada dilución 25 ul de Antígeno HAI A-V.

6- Agitar la policubeta aplicando suaves golpes en los laterales durante por lo menos 30 segundos.

7- Dejar en reposo, protegido de vibraciones durante 60 minutos.

8- Leer a partir de los 60 minutos.

El título del suero será el de la mayor dilución de suero reactivo.

Diluciones correspondientes

Pocillos	1	2	3	4	5	6
Títulos	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280

CRITERIOS DE VALIDACION

El ensayo se considera válido si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones:

- El Control Negativo debe dar un botón nítido en el fondo del pocillo.
- El Control Positivo debe dar una película o manto en el fondo del pocillo.

Si una o ambas condiciones no se cumplen, repetir el ensayo.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

No Reactivo: presencia de un sedimento en forma de botón, nítido y de bordes netos en el fondo del pocillo.

Reactivo Débil: manto pequeño sobre el fondo del pocillo con botón más o menos definido en el centro.

Fuertemente Reactivo: formación de una película o manto a veces de bordes irregulares en el fondo del pocillo.

VALORES DE REFERENCIA

Dentro de las técnicas inmunológicas, la HAI es considerada un método confiable para la determinación de anticuerpos específicos. No obstante, sus resultados, al igual que los de cualquier método serológico, sólo constituyen un dato auxiliar para el diagnóstico. Es por esta razón que los informes deben ser considerados en términos de probabilidad. En este caso, mayor o menor probabilidad de parasitosis por T. cruzi. Se consideran presumiblemente parasitados aquellos individuos cuyos sueros son reactivos con títulos mayores o iguales a 1/40.

Cualquier resultado Reactivo debe ser verificado por otra técnica. Recordar el criterio recomendado por el Instituto Fatała Chaben, según el cual el inmunodiagnóstico de la infección deberá hacerse con un mínimo de 2 de los siguientes métodos: inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta, ELISA, aglutinación de partículas (látex), debidamente validados por el Centro Nacional de Referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver "Sustancias interferentes conocidas" en MUESTRA.

Otras causas de resultados erróneos son:

- Falta de acondicionamiento previo de la policubeta. Para eliminar la carga electrostática es necesario pasar un trapo húmedo por la base.
- Falta de homogeneización de los reactivos antes de su uso.
- Deficiencias de mezclado.
- Vibraciones accidentales durante el reposo necesario para el desarrollo de la reacción.
- Sueros envejecidos o congelados y descongelados repetidamente.
- Sueros inactivados por calor.
- Contaminaciones accidentales de los reactivos o del material empleado en el ensayo.

- Policubetas rayadas por uso reiterado. No se aconseja reusar pocillos en aquellas policubetas que no fueron empleadas en su totalidad.
 - Diluyente de Sueros que no sea de preparación reciente.
 - Dilución de la muestra preparada por más de 24 horas.
- Debe tenerse en cuenta que cada componente de **Chagatest HAI screening A-V**, forma un equipo completo que debe considerarse como unidad. Por este motivo no deben intercambiarse los componentes de distintos equipos.

PERFORMANCE

a) Sensibilidad y especificidad

En poblaciones endémicas, empleando **Chagatest HAI screening A-V**, el 100% de los títulos mayores y el 99% de los títulos menores de 1/40 fueron confirmados por métodos de referencia.

En poblaciones no endémicas, el 100% de los individuos sanos presentó títulos menores a 1/40 empleando **Chagatest HAI screening A-V**.

b) Estudio poblacional

En un estudio realizado sobre 159 muestras provenientes de una población hospitalaria se obtuvo una sensibilidad del 95,3% y una especificidad del 99,2%, datos confirmados por hemaglutinación indirecta y ELISA.

En otra población de 328 individuos, proveniente de un banco de sangre de una zona no endémica, se encontró una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98,7%, comparando con métodos ELISA y hemaglutinación indirecta.

PRESENTACION

Equipo para 480 determinaciones conteniendo:

2 viales x 6,3 ml Antígeno HAI A-V

10 ml Solución Proteica A-V

270 ml Buffer HAI A-V

0,5 ml Control Positivo

0,5 ml Control Negativo

5 policubetas

(Cód. 1293204)

BIBLIOGRAFIA

- Mazza, S. - Sexto Congreso Nacional de Medicina (Córdoba) pág. 155, 1938.
- Cerisola, J.A. - La Prensa Médica Argentina 49/34: 1761, 1962.
- Fontenla S., Moretti E. y González G. - 50° Triduo de la ABA, Huerta Grande (Córdoba), 1985.
- Basso A. y col. - 50° Triduo de la ABA. Huerta Grande (Córdoba), 1985.
- Lorenzo, L.; Capriotti, G.; Rojkin, F.; - Rev. Arg. de Transfusión XVII/1:51, 1991.
- Ministerio de Salud y Acción Social, Instituto Nacional de Parasitología "Doctor Mario Fatala Chabén" - Normas para el diagnóstico de la infección chagásica - Resolución ministerial 523/97, 1998.

EXPLICACION DE LOS SIMBOLOS

Antígeno HAI A-V

Antígeno HAI A-V

Buffer HAI A-V

Buffer HAI A-V

Sol. Proteica A-V

Solución Proteica A-V

Control -

Control Negativo

Control +

Control Positivo

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 4881/03



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina