



WL Check

Chagas

Para la detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera

SIGNIFICACION CLINICA

La enfermedad de Chagas (trpanosomiasis americana) es una infección parasitaria producida por el *Trypanosoma cruzi*. El diagnóstico de laboratorio depende del estadio en el cual se encuentre la enfermedad. Durante la fase aguda, el diagnóstico se efectúa directamente mediante la comprobación de los parásitos en sangre o por métodos inmunológicos que detecten anticuerpos tipo IgM. Durante la fase crónica, se pueden utilizar métodos inmunológicos como: hemaglutinación, inmunofluorescencia, ensayo inmunoenzimático o Western blot. Dado que ninguno de estos tests reúne, individualmente, las condiciones óptimas de sensibilidad y especificidad, se recomienda el uso en paralelo de al menos dos tests serológicos distintos para confirmar la infección por *T. cruzi*.

En los últimos años, se han desarrollados pruebas rápidas inmunocromatográficas basadas en antígenos recombinantes. Por su simpleza y rapidez, estas pruebas constituyen una herramienta complementaria de gran utilidad, tanto para ensayos epidemiológicos de campo como para el diagnóstico clínico, facilitando de esta manera la detección precoz de la infección.

WL Check Chagas es una prueba rápida basada en una combinación especial de antígenos recombinantes capaces de detectar la presencia de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera.

FUNDAMENTOS DEL METODO

WL Check Chagas es un ensayo inmunocromatográfico "in vitro" para la detección cualitativa de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera. La prueba consta de un cassette plástico que contiene:

- una membrana de nitrocelulosa sensibilizada, en la zona de prueba "T", con antígenos recombinantes específicos de los estadios epimastigote y tripomastigote de *T. cruzi*.
- un parche impregnado con antígenos recombinantes específicos de *T. cruzi* conjugados a oro coloidal.

La muestra y el buffer se agregan en el pocillo de muestra "S" solubilizando y mezclándose con el conjugado de antígenos recombinantes. Seguidamente, esta mezcla migra por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa. Si la muestra es reactiva, los anticuerpos anti-*T. cruzi* presentes, formarán un complejo con los antígenos conjugados a oro coloidal. Este complejo se unirá posteriormente a los antígenos inmovilizados en la zona de prueba "T" de la membrana de nitrocelulosa, formando así una línea de color rosa-rojo púrpura. La ausencia de dicha línea indica un resultado negativo. Como control de procedimiento, la prueba incluye

una zona de control "C" de color amarillo que cambia a color rosa-rojo púrpura tras el paso de la muestra. La ausencia de esta línea invalida los resultados.

MATERIAL PROVISTO

A. Reactivo A: cassette plástico compuesto por una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con antígenos recombinantes específicos de *Trypanosoma cruzi* y conjugado de antígenos recombinantes.

B. Reactivo B: buffer fosfato de sodio 50 mM, azida sódica 0,90 g/L, agente tensioactivo, pH = 8,0.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

El material provisto es listo para usar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipeta para medir los volúmenes indicados.
- Dispositivo de 40 uL descartable para toma de sangre entera capilar (sólo provisto en algunas presentaciones).
- Tips descartables.
- Reloj alarma o cronómetro.
- Material para extracción de muestra.
- Lanceta para toma de sangre entera capilar.
- Guantes descartables, guardapolvo, protección ocular.
- Contenedor para el descarte de residuos biológicos.
- Hipoclorito de sodio.

PRECAUCIONES

- Leer el manual de instrucciones de manera completa antes de realizar el ensayo y seguir las instrucciones cuidadosamente.
- No utilizar la prueba si el envase está dañado.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de vencimiento indicada en el envase.
- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Esta prueba proporciona un resultado cualitativo y visual. Es necesaria una buena fuente de luz para la visualización de los resultados.
- No mezclar reactivos de diferentes lotes.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No tocar la membrana de nitrocelulosa con los dedos.
- Seguir las prácticas de seguridad biológica al utilizar muestras y reactivos:
 - . Manipular todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.
 - . Utilizar guantes, guardapolvo y protección ocular.
 - . No pipetear con la boca.
 - . Limpiar y desinfectar las salpicaduras de muestra o reac-

tivos usando hipoclorito sódico (concentración final 5%) u otro desinfectante adecuado. Para inactivar el material empleado autoclavar durante 1 hora a 121°C.

- Evitar la formación de burbujas en el pocillo de muestra "S" tanto al colocar la muestra como el Reactivo B.
- Durante la realización de la prueba, colocar el cassette sobre una superficie limpia, plana y sin vibraciones.
- No agitar el cassette durante la realización del ensayo.
- El cassette es descartable, no reutilizar. Desechar en recipientes destinados a residuos con riesgo biológico.
- El Reactivo B posee azida sódica en bajas concentraciones como conservante.
- Los reactivos y las muestras deben ser descartados de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

El kit es estable entre 2 y 30°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. En caso de almacenar refrigerado, asegurarse que el sobre alcance temperatura ambiente antes de ser utilizado, de lo contrario se favorecerá la humectación del contenido.

El cassette debe permanecer en su sobre original sellado. No abrir el envoltorio hasta el momento de usar.

MUESTRA

Suero, plasma y sangre entera obtenida por punción venosa o punción capilar.

a) Recolección: recoger las muestras asépticamente y de manera tal de evitar hemólisis.

- Suero: obtener el suero de la manera usual. Separar el coágulo dentro de las dos horas posteriores a la obtención. Puede utilizarse suero obtenido en tubos con acelerador y gel separador.
- Plasma: utilizar plasma recogido con EDTA, citrato o heparina.
- Sangre entera (punción venosa): utilizar sangre recogida con EDTA, citrato o heparina.
- Sangre entera (punción capilar): utilizar sangre recogida con el dispositivo de 40 uL descartable (sólo provisto en algunas presentaciones). Realizar la prueba inmediatamente. En caso de utilizar otro dispositivo, es responsabilidad del usuario validar el dispositivo de toma de sangre entera capilar.

Obtención de sangre entera capilar

- 1- Recoger la muestra de la punta del dedo mayor o anular. De ser necesario calentar la mano del paciente para aumentar el flujo sanguíneo. Para ello utilizar una toalla caliente y húmeda o agua caliente (< 42°C).
- 2- Limpiar el dedo con solución acuosa de isopropanol al 70% v/v y dejar que seque. Restos de isopropanol pueden causar la hemólisis de la muestra.
- 3- Colocar la mano con la palma hacia arriba y sostener el dedo del paciente firmemente.
- 4- Utilizar una lanceta nueva para cada paciente. Colocar la lanceta en forma perpendicular a la superficie de la piel. Punzar con firmeza la punta del dedo, sobre la falange distal.
- 5- Desechar la lanceta en un contenedor adecuado para objetos punzantes y con riesgo biológico.

6- Mantener el dedo por debajo de la altura del codo y presionar suavemente la base del dedo a intervalos regulares.
7- Absorber la primera gota de sangre con una gasa estéril y descartar en un recipiente adecuado. De esta manera se asegura la eliminación del líquido tisular de la muestra, evitando así resultados erróneos.

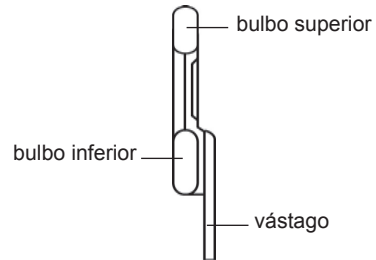
8- Tomar la muestra de sangre con el dispositivo descartable provisto. Para ello:

8a- Sostener el dispositivo en forma vertical y con un ligero ángulo de inclinación respecto a la superficie de la piel. Presionar el bulbo superior.

8b- Tomar la muestra de sangre hasta llenar el vástago, para lo cual se debe soltar el bulbo superior suavemente evitando así la formación de burbujas.

8c- Agitar el dispositivo suavemente y con cuidado de no salpicar. El exceso de muestra debe quedar retenido en el fondo del bulbo inferior. Es muy importante tomar esta precaución para evitar dispensar un exceso de sangre.

8d- Presionar el bulbo superior y descargar los 40 uL de muestra contenidos en el vástago sobre el pocillo de muestra "S".



b) Estabilidad y almacenamiento:

- Suero y plasma: conservar entre 2 y 10°C. En caso de no realizar la prueba dentro de los 3 días conservar la muestra a -20°C. No es recomendable realizar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento. Esto puede generar resultados erróneos. En caso de utilizar muestras congeladas, éstas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de usar.
- Sangre (punción venosa): puede almacenarse hasta 3 días entre 2 y 10°C. No congelar.
- Sangre (punción capilar): utilizar inmediatamente. No congelar.

c) Sustancias Interferentes: no se ha observado interferencia por:

- . Hemólisis: hasta 1,1 g/dL de hemoglobina.
- . Lipemia: hasta 1500 mg/dL de triglicéridos.
- . Bilirrubina: hasta 30 mg/dL.
- . Ácido ascórbico: hasta 50 mg/dL.

d) Transporte: si las muestras deben ser transportadas, embalar de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

PROCEDIMIENTO

- 1- Los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente (18 a 30°C) antes de utilizar.

2- Extraer el cassette de su sobre sellado inmediatamente antes de utilizar.

3- Colocar el cassette sobre una superficie limpia, plana y sin vibraciones.

4- Agregar la muestra sobre el pocillo de muestra "S".

PARA SUERO - PLASMA - SANGRE ENTERA

. Colocar 40 uL con micropipeta automática*.

. Esperar 10 a 15 segundos hasta que se absorba la muestra.

. Agregar 3 gotas (100 uL) de Reactivo B en el pocillo de muestra "S".

. Iniciar el cronómetro.

Nota: * En caso de utilizar sangre entera capilar usar el dispositivo de 40 uL descartable (sólo provisto en algunas presentaciones).

5- En cualquiera de los casos, leer los resultados entre los 25 y 35 minutos. No leer pasado los 35 minutos ya que pueden obtenerse resultados erróneos. Algunas muestras positivas reaccionan inmediatamente mientras que otras lo hacen más lentamente dentro del tiempo de lectura indicado. Debido a características particulares de algunas muestras, el color de fondo de la membrana puede quedar ligeramente rosado sin afectar la interpretación de los resultados.

Resultado Inválido: la ausencia de la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de control "C" invalida el resultado, aunque esté o no presente la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de prueba "T". Un resultado inválido generalmente indica un error en la realización del procedimiento o un problema con la muestra. Con determinadas muestras pueden aparecer dificultades como migración incompleta, muestra muy viscosa o presencia de fibrina. En cualquier caso, revisar el procedimiento, centrifugar nuevamente la muestra y repetir el ensayo utilizando un nuevo cassette.

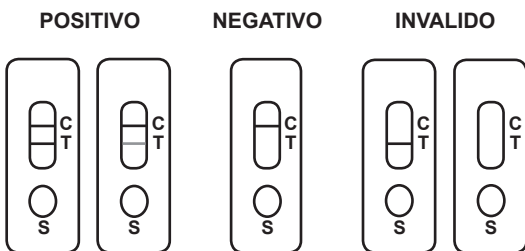
LIMITACIONES DEL METODO

- **WL Check Chagas** es una prueba para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi*. Cualquier resultado obtenido con esta prueba debe ser confirmado por otros métodos y cotejado con los datos clínicos del paciente antes de realizar el diagnóstico definitivo.
- Un resultado reactivo por **WL Check Chagas** indica la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Este resultado debe ser verificado por otra técnica. Tener en cuenta el criterio recomendado por el Instituto Fátala Chabén, según el cual el inmunodiagnóstico de la infección deberá hacerse con un mínimo de 2 de los siguientes métodos: inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y ELISA, debidamente validados por el Centro Nacional de Referencia.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por *T. cruzi*. Se puede obtener un resultado falso negativo en muestras con niveles bajos de anticuerpos anti-*T. cruzi* o en estadios tempranos de la infección. Por estas razones se debe tener cuidado al interpretar un resultado negativo, especialmente en pacientes con presencia de síntomas clínicos y factores de riesgo.
- Pueden obtenerse resultados falsos positivos en las siguientes situaciones: enfermedades autoinmunes, tuberculosis, lupus eritematoso sistémico, embarazo, vacunación contra hepatitis B y otras inmunizaciones, hemodiálisis, enfermedad hepática, otras parasitosis como Leishmaniasis y otras enfermedades infecciosas diferentes a Chagas (HIV, HTLV, hepatitis C, hepatitis B, sífilis, etc).
- Pueden obtenerse resultados erróneos con muestras de suero o plasma con aspecto turbio debido a contaminación bacteriana o por haber sido sometidas a varios ciclos de congelación y descongelación.
- La utilización de muestras inactivadas por calor puede proporcionar resultados incorrectos.
- No utilizar pools de muestras o muestras diluidas.
- Ver sustancias interferentes en MUESTRA.

CRITERIOS DE VALIDACION DE LA PRUEBA

- El cassette cuenta con una línea de color amarillo en la zona de control "C" que permite identificar la determinación **WL Check Chagas**.
- Al realizar el ensayo la línea de color amarillo debe cambiar a color rosa-rojo púrpura. Este cambio de color confirma que se ha agregado el volumen adecuado de muestra, que su migración fue apropiada y que la realización del procedimiento fue correcta.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS



Resultado Positivo (2 líneas): se observan 2 líneas de color rosa-rojo púrpura, una en la zona de prueba "T" y otra en la zona de control "C". La intensidad de color de la línea "T" dependerá de la muestra en estudio. Cualquier color rosado visible, aunque sea muy tenue debe ser interpretado como positivo. El resultado es positivo aunque las intensidades del color de las líneas "T" y "C" sean diferentes.

Resultado Negativo (1 línea): se observa solamente una línea de color rojo-rosa púrpura en la zona de control "C". No aparece línea de color en la zona de prueba "T".

PERFORMANCE

a) Sensibilidad

Sensibilidad Clínica en Paneles de Performance

En un estudio realizado sobre diferentes paneles comerciales internacionales, se obtuvieron los siguientes resultados:

- PMT 202 (Anti-*T. cruzi* Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 13 de las 14 muestras reactivas.
- PP 0407 (Panel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.

- PP 0508 (Panel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.
- PP 0409 (Panel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.

Sensibilidad con Controles Internacionales

- VIROTROL® Chagas - Bio-Rad: se obtuvo resultado reactivo.
- ACCURUN® 190 Control Positivo de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* (Chagas) - Sera Care Life Sciences: se obtuvo resultado reactivo.

Sensibilidad clínica en Paneles de muestras reactivas anti-*T. cruzi*
En un estudio realizado sobre un panel de 326 muestras reactivas por ELISA y hemaglutinación indirecta (HAI), la sensibilidad obtenida fue de 93,87% con un IC_{95%} = 91,11% - 96,62%.

En otro estudio realizado sobre 83 muestras reactivas de niños provenientes de región endémica para la infección por *T. cruzi*, se encontraron reactivas 78 muestras.

Un estudio realizado en un Centro de Referencia para el Diagnóstico de Chagas analizó un panel de 72 muestras reactivas obteniéndose una sensibilidad de 98,61% con un IC_{95%} = 92,51% - 99,96%.

Otro estudio evaluó, en paralelo, 106 muestras reactivas de plasma y sangre entera obtenidas del mismo paciente. En el caso de los plasmas se detectaron 106 muestras, mientras que en el caso de la sangre entera resultaron reactivas 97 muestras.

b) Especificidad

En un estudio realizado sobre 1419 muestras de sueros, plasmas y sangres enteras provenientes de tres centros de salud diferentes, se encontró una especificidad de 97,89% con un IC_{95%} = 97,10% - 98,67%. Para 200 de estas muestras

se evaluaron en forma paralela, suero y plasma del mismo paciente. Para 17 de estas 200 muestras también se evaluó sangre entera obtenida por punción capilar. Con todos los tipos de muestras se tuvieron resultados negativos.

En otro estudio realizado sobre 313 muestras de banco de sangre, la especificidad obtenida fue de 98,08% con un IC_{95%} = 96,40% - 99,76%.

También se estudió la posible aparición de reactividades cruzadas ensayando muestras provenientes de 257 individuos con diferentes condiciones clínicas que pueden ser causantes de reacciones inespecíficas para el ensayo **WL Check Chagas**. Estas condiciones incluyen mujeres embarazadas, pacientes hemodializados, pacientes con enfermedades autoinmunes o enfermedades infecciosas diferentes a Chagas (HIV, HTLV, hepatitis C, hepatitis B, sífilis, otras). Para esta población la especificidad fue de 98,44% con un IC_{95%} = 96,73% - 100,0%. En este muestreo se incluyeron 12 plasmas de pacientes con Leishmaniasis cutánea y 12 con Leishmaniasis mucocutánea. **WL Check Chagas** no presentó reacciones cruzadas por Leishmaniasis en ninguna de las muestras evaluadas.

c) Precisión

Se evaluó la precisión del test siguiendo el protocolo EP5-A recomendado por el CLSI (ex NCCLS). Los ensayos fueron realizados con 4 muestras positivas con diferentes niveles de reactividad y con 1 muestra negativa. Se realizaron 2 ensayos diarios evaluando cada muestra por duplicado por el transcurso de 20 días. Los resultados fueron leídos a los 25 minutos en forma visual por 3 operarios independientes y de forma instrumental, utilizando un lector inmunocromatográfico. Las muestras positivas y negativas fueron identificadas correctamente en el 100% de los casos.

Interpretación instrumental	Línea T					Línea C				
	Media (DO)	Intraensayo		Total		Media (DO)	Intraensayo		Total	
		S	CV	S	CV		S	CV	S	CV
Muestra positiva 1	0,590	0,068	11,61%	0,067	11,38%	0,833	0,076	9,18%	0,079	9,45%
Muestra positiva 2	0,437	0,047	10,86%	0,050	11,36%	0,851	0,062	7,30%	0,059	6,96%
Muestra positiva 3	0,401	0,056	13,87%	0,054	13,57%	0,873	0,066	7,51%	0,066	7,54%
Muestra positiva 4	0,145	0,020	13,74%	0,021	14,45%	0,846	0,061	7,25%	0,071	8,34%
Muestra negativa	(-)	NC	NC	NC	NC	0,812	0,061	7,47%	0,078	9,64%

N = 80; (-) = no reactivo por lectura visual; NC = No Corresponde

PRESENTACION

- 25 determinaciones (Cód. 1690011)

BIBLIOGRAFIA

- 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.
- WHO. Control of Chagas disease. Ginebra: WHO Press, 2002.
- OMS. Reporte sobre la enfermedad de Chagas. Grupo de trabajo científico 17-20 de abril de 2005. Guhl F, Lazdins-

- Helds J, editores. Buenos Aires - Argentina. http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/swg_chagas.pdf.
- Centers for Disease Control and Prevention - Chagas Disease. <http://www.cdc.gov/chagas>.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. EP5-A, Vol. 19, N° 2, NCCLS.
- Interference testing in Clinical Chemistry. Approved Guideline. EP7-A, Vol. 22, N° 27, CLSI (ex NCCLS).
- User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. EP12-A, Vol. 22, N° 14, NCCLS.

- Evaluation of Stability of "in vitro" Diagnostic Reagents. Approved Guideline. EP-25A, Vol. 29, N° 20, CLSI (ex NCCLS).
- Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard, 5ª Edición. H4-A5, Vol. 24, N° 21, CLSI (ex NCCLS).

SIMBOLOS

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"

EC **REP** Representante autorizado en la Comunidad Europea

IVD 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

Cont. Contenido

LOT Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso

Calibr. Calibrador

CONTROL Control

CONTROL+ Control Positivo

CONTROL- Control Negativo

REF 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.: 7832/12



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina