

Prueba rápida para la detección cualitativa de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) en muestras humanas de sangre entera, suero o plasma.

Exclusivo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

【USO PREVISTO】

La prueba rápida de Chagas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) en muestras humanas de suero, plasma o sangre entera. Se presupone que se emplee como una prueba de tamizaje y como un recurso de diagnóstico para detectar la infección *Trypanosoma cruzi*. Cualquier muestra reactiva con la prueba rápida de Chagas debe confirmarse con método(s) de prueba alternativo(s) y hallazgos clínicos.

【RESUMEN】

La enfermedad de Chagas es una infección zoonótica transmitida por insectos a través del protozoario *T. cruzi*, el cual ocasiona una infección sistémica de humanos con manifestaciones agudas y secuelas prolongadas. Se estima que entre 16 y 18 millones de personas se infectan alrededor del mundo y, aproximadamente, 50,000 personas mueren cada año debido a una enfermedad de Chagas crónica (Organización Mundial de la Salud)¹.

El examen de leucocitos y el xenodiagnóstico solían ser los métodos más comunes^{2,3} en el diagnóstico agudo de infección *T. cruzi*. Sin embargo, ambos métodos son largos y faltos de sensibilidad. Recientemente, la prueba serológica se ha convertido en un elemento fundamental en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. En particular, las pruebas que se basan en antígenos recombinantes eliminan las reacciones falso-positivas, las cuales suelen ser comunes en las pruebas de antígenos nativos^{4,5}.

La prueba rápida de Chagas es una prueba instantánea de anticuerpos que detecta anticuerpos IgG *T. cruzi* en 15 minutos sin la necesidad de usar algún instrumento. La prueba es altamente sensible y específica si se utilizan un antígeno recombinante *T. cruzi* específico.

【PRINCIPIO】

La prueba rápida de Chagas en casete (sangre entera/suero/plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección de anticuerpos tipo IgG anti-*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) en sangre entera, suero o plasma. La membrana se pre-recubre con con anticuerpo recombinante de ratón anti-IgG humana en la región de línea de prueba del casete. Durante la prueba, las muestras de sangre entera, suero o plasma reaccionan con el antígeno de Chagas recombinante conjugado con oro coloidal. La mezcla migra hacia arriba de la membrana cromatográficamente por medio de capilaridad para reaccionar con el anticuerpo de ratón anti-IgG humano en la membrana y producir una línea de color. La presencia de esta línea de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Como procedimiento de control, siempre aparecerá una línea de color en la región de línea de control que indica que se añadió el volumen de muestra adecuado y ocurrió la capilaridad en la membrana.

【REACTIVOS】

El casete de prueba contiene antígeno de Chagas recombinante conjugado con oro coloidal, anticuerpos de ratón anti-IgG humana recubiertos en la membrana.

【PRECAUCIONES】

- Exclusivo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. No usarse después de su fecha de vencimiento.
- No beber, comer o fumar en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- Manejar las muestras como si contengan agentes infecciosos; observe las precauciones establecidas contra los peligros

microbiológicos durante el procedimiento y siga las procedimientos estándar para la correcta eliminación de las muestras.

- Vestir ropa de protección tales como batas de laboratorio, guantes desechables y protección ocular cuando se ensayen las muestras.
- Los resultados pueden ser afectados por la humedad y temperatura.

【ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD】

El kit puede almacenarse a temperatura ambiente o en refrigeración (2-30°C). El casete de prueba es estable hasta la fecha de vencimiento que está impresa en el sobre sellado. El casete de prueba debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso. NO DEBE CONGELARSE. No utilizarlo después de la fecha de vencimiento.

【RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS】

- La prueba rápida de Chagas en casete (sangre entera/suero/plasma) puede realizarse utilizando muestras de sangre entera (por venopunción o punción capilar), suero o plasma.
- Para recolectar las muestras de sangre entera por punción capilar:
 - Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón o limpie con una torunda alcoholada y deje secar.
 - Masaje la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia abajo en dirección a la punta del dedo medio o anular.
 - Puncie la piel con una lanceta estéril y limpie la primer señal de sangre.
 - Frotar la mano de manera gentil desde la muñeca pasando por la palma y llegando hasta el dedo para formar una gota de sangre redonda en el sitio de la punción.
- Añada la muestra de sangre entera de la punción capilar a la prueba utilizando tubo capilar:
 - Toque con un extremo del tubo capilar la sangre hasta llenar aproximadamente 50 µL, evitando burbujas de aire.
 - Coloque el bulbo encima del extremo superior del tubo capilar, luego presione el bulbo para dispensar la sangre entera en el área de muestra del casete.
- Añada la muestra de sangre entera de la punción capilar utilizando gotas colgantes:
 - Coloque el dedo del paciente de modo que la gota de sangre se encuentre justo encima del área de muestra del casete.
 - Permita caer dos gotas de sangre entera de la punción capilar en el centro del área de muestra del casete, o mueva el dedo del paciente para que las gotas toquen el centro del área de muestra, evitando que el dedo toque directamente el área de prueba.
- En cuanto le sea posible, separe el suero o plasma de la sangre para evitar hemólisis. Utilice sólo muestras limpias no hemolizadas.
- La prueba debe realizarse de manera inmediata después de que se recolectó la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente por un periodo de tiempo prolongado. Las muestras de suero o plasma deben almacenarse entre 2-8°C por máximo 3 días. Para un almacenamiento prolongado, las muestras deben permanecer a menos de -20°C. La sangre entera que se recolectó por venopunción debe almacenarse entre 2-8°C si la prueba se realizará en los próximos 2 días después de la recolección. No congele las muestras de sangre entera. La sangre entera que se recolectó por punción capilar debe analizarse de manera inmediata.
- Llevar las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse por completo y estar bien mezcladas antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse en ocasiones repetidas.
- Si las muestras serán enviadas, deben empacarse de acuerdo a las normas locales para la transportación de agentes etiológico.

【MATERIALES】

Materiales requeridos

- | | | | |
|--------------------|-----------|----------|----------------------|
| • Prueba en casete | • Goteros | • Buffer | • Instructivo de uso |
|--------------------|-----------|----------|----------------------|

Materiales requeridos, pero no proporcionados

- | | |
|-----------------------------|---------------------------------|
| • Contenedores para muestra | • Centrífuga (sólo para plasma) |
|-----------------------------|---------------------------------|

- Temporizador
- Lancetas (sólo para sangre entera por punción capilar)
- Tubos capilares con heparina y bulbo dispensador (sólo para sangre entera por punción capilar)

【INSTRUCCIONES DE USO】

Permita que el casete de prueba, muestras y/o controles se encuentren a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

- Permita que el sobre se encuentre a temperatura ambiente antes de abrirlo. Remueva la prueba en casete del sobre sellado y utilícelo lo antes posible. Se obtienen mejores resultados si el ensayo se realiza dentro de la primera hora posterior a la recolección.
- Coloque el casete en una superficie limpia y nivelada.

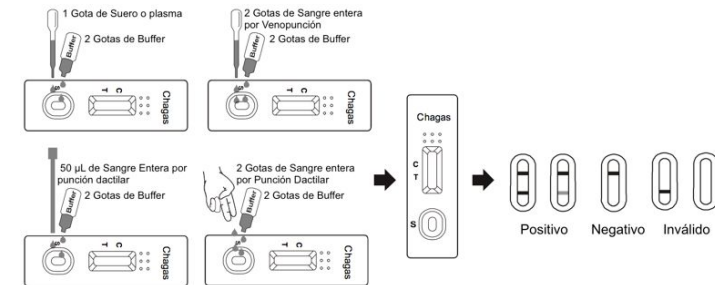
Para muestra de **suero o plasma**: Sostenga el gotero de forma vertical y **coloque 1 gota de suero o plasma** (aproximadamente 25 µL) en el área de muestra, después **agregue 2 gotas de buffer** (aproximadamente 80 µL) e inicie el temporizador. Véase la ilustración debajo.

Para muestra de **sangre entera por venopunción**: Sostenga el gotero de forma vertical y **coloque 2 gotas de sangre entera** (aproximadamente 50 µL) en el área de muestra, después **agregue 2 gotas de buffer** (aproximadamente 80 µL) e inicie el temporizador. Véase la ilustración debajo.

Para muestra de **sangre entera por punción capilar**:

- Utilizando un tubo capilar: Llenar del tubo capilar y **coloque aproximadamente 50 µL de muestra de sangre entera por punción capilar** en el área de muestra del casete, después **agregue 2 gotas de buffer** (aproximadamente 80 µL) e inicie el temporizador. Véase la ilustración debajo.
- Utilizando gotas colgantes: Permita caer **dos gotas de muestra de sangre entera de la punción capilar** (aproximadamente 50 µL) en el el área de muestra del casete de prueba, después **agregue 2 gotas de buffer** (aproximadamente 80 µL) e inicie el temporizador. Véase la ilustración debajo.

- Espera a que aparezca(n) la(s) línea(s) de color. Lea los resultados a los **15 minutos**. No interprete los resultados después de **20 minutos**.



【INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS】

(Favor de consultar la imagen anterior)

POSITIVO: Aparecen dos líneas de color distintas. Debe aparecer una línea de color en la región de control (C) y otra línea de color en la región de prueba (T).

NOTA: La intensidad del color en la región de línea de prueba (T) varía dependiendo de la concentración de anticuerpos Chagas presente en la muestra. Por consiguiente, cualquier tonalidad de color rojo en la región de prueba debe considerarse como positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea de color rojo o rosa en la región de prueba.

INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Las razones más comunes para que la línea de control no aparezca son porque el volumen de muestra fue insuficiente o se realizaron las técnicas del procedimiento de manera incorrecta. Revise el procedimiento y repita la prueba con un casete nuevo. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit de prueba de inmediato y consulte a su distribuidor local.

【CONTROL DE CALIDAD】

Los controles del procedimiento interno se incluyen en la prueba. La línea de color que aparece en la región de control (C) es un control del procedimiento positivo interno que confirma que el volumen de muestra es suficiente y se realizó la técnica del procedimiento correcta. Los estándares de control no se incluyen con este kit; sin embargo, se recomienda que se ensayen los controles positivos y negativos como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba y verificar el desempeño apropiado de la misma.

【LIMITACIONES】

- 1.El procedimiento y la Interpretación de los resultados del ensayo deben observarse detenidamente cuando se realicen pruebas para detectar la presencia de anticuerpo anti-T.cruzi en suero, plasma o sangre entera de sujetos individuales. El incumplimiento del procedimiento puede ocasionar resultados imprecisos.
- 2.La prueba rápida de Chagas está limitada a la detección cualitativa de anticuerpo anti-T. cruzi en muestras humanas de suero, plasma y sangre entera. La intensidad de la banda en la zona de prueba no tiene una correlación lineal con la concentración del anticuerpo en la muestra.
- 3.Un resultado negativo para un sujeto individual indica la ausencia de un anticuerpo anti-T. cruzi detectable. Sin embargo ,un resultado negativo no impide la posibilidad de exposición o infección con *T. cruzi*.
- 4.Puede ocurrir un resultado negativo si la cantidad de anticuerpo anti-T. cruzi presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o que los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en que se recolectó la muestra.
- 5.Algunas muestras que contienen concentraciones inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o el factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
- 6.Los resultados obtenidos con esta prueba deben interpretarse en conjunto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

【VALORES ESPERADOS】

La Prueba rápida de Chagas en casete (sangre entera/suero/plasma) se comparó con una un inmunoensayo enzimático comercial líder para la detección de Chagas. La correlación entre estos dos sistemas es de 98.1%.

【CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO】

Sensibilidad y especificidad

Se probaron un total de 214 muestras de personas susceptibles con la Prueba Rápida de Chagas en casete y con un inmunoensayo enzimático comercial para la detección de Chagas. En la siguiente tabla se muestra la comparación de los resultados.

Método		ELISA		Resultados Totales
Chagas Rapid Test Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma)	Resultado s	Positivo	Negativo	
	Positivo	13	4	17
	Negativo	1	246	247
Resultados totales		14	250	264

Sensibilidad relativa: 92.9% (95%CI*: 66.1%-99.8%)

Especificidad relativa: 98.4% (95%CI*: 96.0%-99.6%)

Exactitud: 98.1% (95%CI*: 95.6%-99.4%)

CI*: Intervalos de Confianza

Precisión

Intra-ensayo

La precisión dentro de una misma serie se determinó utilizando 10 réplicas de 4 muestras: una negativa, una baja positiva, una media positiva y una alta positiva. Los valores negativo, bajo positivo, medio positivo y alto positivo se identificaron correctamente el >99% de las veces.

Inter-ensayo

La precisión entre distintas series se determinó con 10 ensayos independientes con las mismas 4 muestras: una negativa, una baja positiva, una media positiva y una alta positiva. Tres lotes diferentes de la Prueba rápida de Chagas en casete (sangre entera/suero/plasma)

han sido probados usando muestras negativa, baja positiva, media positiva y alta positiva. Las muestras se identificaron correctamente el >99% de las veces.

Reactividad cruzada

La Prueba rápida de Chagas en casete (sangre entera/suero/plasma) con muestras positivas de HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HbCAb, Sífilis, VIH, H.pylori, MONO, CMV, Rubeola y TOXO. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Sustancias de interferencia

Las siguientes sustancias de interferencia potenciales se agregaron a las muestras negativas y positivas.

Acetaminofén: 20 mg/dL

Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL

Ácido ascórbico: 2g/dL

Creatina: 200 mg/dL

Bilirrubina: 1g/dL

Cafeína: 20 mg/dL

Ácido gástrico: 20 mg/dL

Albumina: 2 g/dL

Hemoglobina: 1000mg/dL

Ácido oxálico: 60mg/dL

Ninguna de las sustancias, en la concentración a las que se probaron, interfirió con el ensayo.

【BIBLIOGRAFÍA】

1. World Health Organization. Control of Chagas disease: report of a WHO expert committee. 1991
2. Frasch ACC, Reyes MB, Sanchez DO. Diagnosis of Chagas disease: present and future. In: Chagas' disease and the nervous system. Washington, DC: pan American Health Organization. 1994: 47-53
3. Frasch AC, Reyes MB. Diagnosis of Chagas disease using recombinant DNA technology. Parasitol Today. 1990,6(4):137-9
4. Lorca M, González A, Reyes V, Veloso C, Vergara U, Frasch C. [The diagnosis of chronic Chagas disease using recombinant antigens of Trypanosoma cruzi] Rev Med Chil. 1993 121(4):363-8.
5. da Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant Trypanosoma cruzi antigens for serological diagnosis. Trends Parasitol. 2001, 17(6):286-91.

Índice de Símbolos

	Atención, lea las instrucciones de uso		Pruebas por kit		Representante Autorizado
	Sólo para diagnóstico in vitro		Utilice hasta		No reutilizar
	Almacene de 2-30°C		Número de Lote		# de Catálogo
	No utilizar si el empaque esta dañado				

Número: 145074902

Revisión: 09/05/2018

Distribuido por DIAGNOSE S.A. DE C.V.
Circunvalación Ote. 140-A
Ciudad Satélite, Naucalpan
Estado de México, C.P.53100
Tel. (55) 8942 7900