

# CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE

## Ensayo inmunocromatográfico rápido para la detección de anticuerpos específicos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma ó sangre entera

Sólo para uso diagnóstico “in vitro”

**PRESENTACIONES:** Kits por 25, 50, 100 ó 200 determinaciones

### ASPECTO CLÍNICO Y USO AL QUE ESTA DESTINADO

La Enfermedad de Chagas es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* afectando principalmente a los países de Latinoamérica. Las vías de transmisión del *Trypanosoma cruzi* pueden ser vectorial a través de las heces infectadas del insecto vector del género *Triatominae*, congénita por la ruta transplacentaria, transfusional por contacto con sangre infectada, por trasplante de órganos o por accidente laboral. Se reconocen tres períodos evolutivos de la enfermedad. El período agudo, generalmente visto en niños es usualmente asintomático. La mayoría de los casos agudos se resuelve en dos a tres meses. Se sigue el período sin complicaciones clínicas donde la seropositividad es la evidencia de la existencia de la enfermedad. La enfermedad crónica se caracteriza por trastornos en el funcionalismo cardíaco que puede conducir a la muerte súbita por fibrilación ventricular o al óbito por insuficiencia cardíaca progresiva. Se han desarrollado ensayos rápidos inmunocromatográficos para la detección de anticuerpos específicos en suero, plasma y sangre entera que por su sencillez y por no requerir instrumental adicional pueden ser muy útiles para ensayos epidemiológicos y para ensayos clínicos de rutina e inferir precozmente la infección por el *Trypanosoma cruzi*.

### PRINCIPIO DEL ENSAYO

CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE es un ensayo inmunocromatográfico rápido para la detección de anticuerpos específicos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma ó sangre entera.

El producto contiene casetes plásticos con una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con Antígenos Recombinantes específicos de *Trypanosoma cruzi* de los estadios epimastigote y tripomastigote en el área identificada con la letra “T” y un parche impregnado con Anticuerpos anti Inmunoglobulina Humana conjugados con oro coloidal colocado a la altura del receptáculo destinado para la muestra.

Agregada las muestras y el Buffer en el receptáculo se mezcla con el Conjugado y fluye lateralmente a través de la membrana de nitrocelulosa. Los anticuerpos de la muestra se unen al Conjugado y, si la muestra tiene anticuerpos específicos contra el *Trypanosoma cruzi*, estos se unen posteriormente al Antígeno del área “T” desarrollándose una línea coloreada. En ausencia de anticuerpos específicos esta línea no se desarrolla. Adicionalmente el producto tiene una línea Control en el área identificada con la letra “C”, la cual, siempre tiene que aparecer al discurrir la muestra, para asegurar la validez de la prueba.

### CONTENIDO

**Casetes:** Envases individuales conteniendo cada uno casetes con membrana de nitrocelulosa sensibilizada con Antígenos Recombinantes específicos del *Trypanosoma cruzi* y

Conjugado de anticuerpos anti Inmunoglobulina Humana con Oro coloidal, un Dispensador para Sangre aforado y un desecante.

Cantidad: 25, 50, 100 ó 200 casetes según presentación.

**Buffer:** Frasco gotero conteniendo Carbonato de Sodio 0,296 % P/V, Bicarbonato de Sodio 0,159 % P/V, Cloruro de Sodio 0,700 % P/V, PEG 12.000 0,500 % P/V, EDTA di Sódico 0,500 % P/V y Azida de Sodio 0,020 % P/V como conservador en agua purificada. Listo para usar.

Volumen: 3,5, 7,0, 14,0 ó 28,0 ml según presentación

**Control Positivo:** Frasco conteniendo una Dilución de suero humano reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, inactivado químicamente, estabilizado, con Azida de Sodio 0,2% P/V, como conservador. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.

Volumen: 0,8 ml para todas las presentaciones.

**Control Negativo:** Frasco conteniendo una Dilución de suero humano no reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, estabilizado, inactivado químicamente, con Azida de Sodio 0,2% P/V, como conservador. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.

Volumen: 0,8 ml para todas las presentaciones.

**Lancetas** esterilizadas para punción capilar de uso individual.

Cantidad: 25, 50, 100 ó 200 lancetas según presentación.

**Hojas de Papel Absorbente** para limpiar el área de punción capilar.

Cantidad: 50, 100, 200 ó 400 hojas según presentación.

**Manual de Instrucciones:** El presente documento.

**Nota:** *Control Positivo y Negativo* se preparan a partir de suero humano no reactivo para HBsAg y para anticuerpos contra HCV y HIV, adecuadamente inactivado. Sin embargo, por ser derivados de la sangre humana deben manejarse con precaución.

## **MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS**

1. Marcador indeleble.
2. Cronómetro.
3. Alcohol Medicinal 96° ó Alcohol etílico 70° para desinfección de la yema del dedo.
4. Materiales para recolección de muestras si realiza su obtención por venopunción y micropipetas de dispensado para este caso.
5. Descartador de desechos potencialmente infectivos.
6. Materiales de bioseguridad.

## **ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**

1. El producto debe ser conservado entre 2 y 30°C y usarse antes de la fecha de vencimiento declarada en los rótulos. No congelar.
2. El producto debe ser llevado a temperatura ambiente antes de utilizar.
3. Una vez abierto el envase que contiene el Casete debe ser utilizado inmediatamente ya que es sensible a la humedad.

## **PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS**

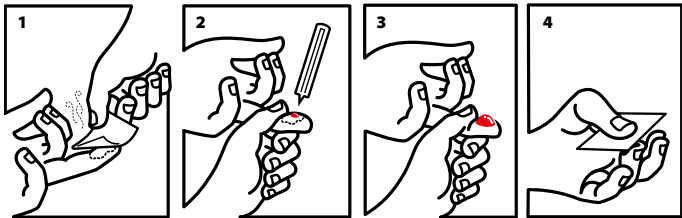
1. Sólo para uso diagnóstico “in vitro”.
2. No utilice el producto después de la fecha del vencimiento declarada en los rótulos. El producto debe ser conservado entre 2 y 30°C.

- Los procedimientos deben realizarse cuidadosamente para obtener resultados e interpretaciones clínicas fiables.
- No mezcle componentes de lotes diferentes. No intercambie la tapa entre los diferentes componentes del producto.
- No utilice el casete si su envase individual no está intacto.
- No utilice las lancetas si su envase individual no está intacto.
- El Casete, el Dispensador para Sangre aforado, las lancetas y el papel absorbente son para un solo uso.
- Muestras y materiales potencialmente infecciosos tienen que ser manejados con cuidado siguiendo las normas de bioseguridad vigentes.
- Todos los objetos en contacto directo con las muestras y los residuos del ensayo deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los procedimientos más efectivos para la inactivación son el tratamiento con autoclave a 121°C durante 30 minutos o con Hipoclorito de Sodio a una concentración final de 2,5% durante 24 horas.
- Evite cualquier contacto de líquidos con la piel y mucosas. Siempre use para su protección guantes, lentes, etc., según las normas de bioseguridad.
- La Azida de Sodio utilizada como conservador es tóxica en caso de ingestión. En contacto con ácidos emite vapores tóxicos. Ocasionalmente, puede producir explosiones en contacto con iones metálicos. Por lo tanto, en caso de descarte por un sistema de desagüe, debe hacer fluir abundante agua.

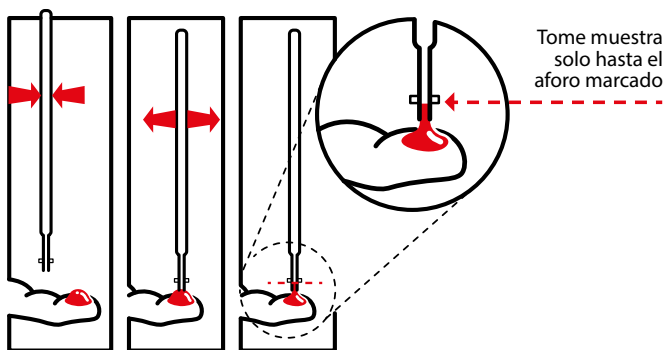
## **RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

### **SANGRE ENTERA DE PUNCIÓN CAPILAR:**

- Utilice muestra obtenida del dedo mayor o anular. Para facilitar el flujo de sangre masajee el dedo y/o aplique calor suave.
- Utilizando un papel absorbente desinfecte la yema del dedo del paciente con Alcohol Medicinal 96° ó Alcohol etílico 70°. Espere a que se seque la superficie humedecida.
- Abra el sobre de una lanceta por la parte trasera evitando tocar su punta. Ya seca la superficie del dedo y con la palma de la mano hacia arriba, efectúe la punción con firmeza sobre la yema del dedo.
- Descarte la lanceta, y presione el dedo del paciente para lograr el sangrado.
- Absorba la primera gota de sangre con el papel absorbente provisto para eliminar el líquido tisular de la muestra. Vea el siguiente dibujo:



- Tome el Dispensador para Sangre aforado presione suavemente su bulbo y ponga en contacto el extremo abierto con la sangre, permitiendo que ascienda hasta el aforo marcado (10 µl) liberando suavemente el bulbo. Vea el siguiente dibujo:



7. Realice la prueba inmediatamente depositando la sangre en el receptáculo del casete destinado para tal fin.
8. Entregue al paciente un papel absorbente. Indíquelo que presione 1 a 2 minutos.

#### **SANGRE ENTERA DE PUNCIÓN VENOSA:**

La sangre se extraerá de un paciente siguiendo las normas generales. Recoger la Sangre Entera obtenida por punción venosa en tubos conteniendo anticoagulantes como EDTA, Heparina o Citrato de Sodio.

#### **PLASMA:**

La sangre se extraerá de un paciente siguiendo las normas generales. Recoger la Sangre obtenida por punción venosa en tubos conteniendo anticoagulantes como EDTA, Heparina o Citrato de Sodio. Centrifugar el tubo para separar el plasma obtenido.

#### **SUERO:**

La sangre se extraerá de un paciente siguiendo las normas generales. Recoger la Sangre obtenida por punción venosa en tubos sin anticoagulantes. Dejar en reposo para que se forme el coágulo durante 30 minutos como mínimo y centrifugar a 3000 rpm durante 10-15 minutos para obtener el suero.

Las muestras de Sangre venosa deben ser usadas inmediatamente o pueden guardarse entre 2 y 8°C durante 3 días. El plasma o el suero pueden someterse a almacenamiento prolongado congelándolos a -20°C; deben ser colocados a temperatura ambiente antes de usar. Evite congelamientos y descongelamientos reiterados. Muestras congeladas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de usar. Ante la presencia de turbiedad, precipitados o coágulos recomendamos centrifugar a 2000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente o filtrar con membranas de 0.22µ. No utilizar muestras con contaminación bacteriana dado que pueden producir falsos resultados. No utilice muestras inactivadas por calor.

No se ha observado interferencia por hemólisis hasta 10 mg/ml, triglicéridos hasta 15 mg/ml y bilirrubina hasta 0.30 mg/ml.

#### **PROCEDIMIENTO DE ENSAYO**

1. Coloque los componentes del producto y las muestras necesarias para la prueba a temperatura ambiente antes de realizar el procedimiento de ensayo.
2. Inmediatamente antes de usar extraiga de su envase la cantidad de casetes necesarios para el ensayo. Considere procesar como mínimo un Control Negativo y uno Positivo. Cada casete puede identificarlo apropiadamente con un marcador indeleble.

- Coloque los casetes seleccionados sobre una superficie limpia, plana y seca a resguardo de vibraciones.
- Adicionar en el receptáculo destinado para las muestras: 10  $\mu$ l de Sangre Entera o 5  $\mu$ l de Suero o Plasma. Utilice, según el caso, el Dispensador para Sangre aforado provisto o micropipetas. Esperar que se absorba completamente.
- Adicionar seguidamente en el mismo receptáculo una gota (aproximadamente 40  $\mu$ l) de Buffer. Esperar que se absorba completamente. Adicionar otra gota e iniciar el cronómetro.
- Observar el desarrollo de líneas coloreadas en la ventana de resultados.
- Interpretar los resultados entre los 20 y 30 minutos. No interpretar pasados los 30 minutos ya que pueden obtenerse resultados erróneos. Algunas muestras positivas reaccionan inmediatamente otras lo hacen sobre el tiempo límite de interpretación. En algunos casos el fondo de la membrana de nitrocelulosa puede quedar débilmente coloreado sin perturbar la interpretación de los resultados. Vea el siguiente dibujo:

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### Resultado Negativo:

Aparece una sola línea Control color rojizo en el área identificada con la letra “C”.



### Resultado Positivo:

Aparecen dos líneas de color rojizo. Una en el área identificada con la letra “T” y otra línea Control en el área identificada con la letra “C”.

La intensidad de color de la línea “T” puede variar dependiendo de la muestra en estudio. Todo color visible, aunque sea muy tenue debe ser interpretado como positivo. Las intensidades de las líneas “T” y “C” pueden ser diferentes no obstante el resultado es positivo.



### Resultado Invalido:

Ausencia de línea Control color rojizo en el área identificada con la letra “C” aunque esté o no la línea en el área identificada con la letra “T”. Esto puede ocurrir debido a un error en el procedimiento de ensayo, o un inconveniente con la muestra debido a la presencia de fibrina, o su alta viscosidad que genera una migración incompleta. En este caso debe repetir el procedimiento utilizando un nuevo casete con la muestra nuevamente centrifugada.



## VALIDACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Una línea Control de color rojizo en el área identificada con la letra “C”, siempre tiene que aparecer al discurrir la muestra, para asegurar que la prueba se realizó correctamente y el producto está funcionando apropiadamente.

La inclusión de un Control Positivo y un Control Negativo permiten asegurar el correcto funcionamiento del producto. Úselos según las instrucciones del procedimiento de ensayo del presente manual.

## LIMITACIONES DEL METODO:

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. La técnica de inmunocromatografía, como cualquier otra técnica serológica, no puede ser concebida como un método de diagnóstico definitivo ya que éste debe basarse en la correlación de los resultados de más de un test con los datos clínicos y epidemiológicos. En ese sentido, todo resultado debe ser interpretado como una probabilidad mayor o menor de acierto en relación al caso estudiado, dentro de la población normal o parasitada.

Todo resultado obtenido con esta prueba tiene que ser confirmado por otros métodos alternativos.

Un resultado reactivo debe ser verificado por otra técnica como inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y/o ELISA.

Un resultado no reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección por el *Trypanosoma cruzi*. En infecciones muy recientes (menos de 30/45 días de evolución) la técnica puede presentar resultados no reactivos.

Resultados falsos positivos podrían aparecer en enfermedades autoinmunes, embarazo, enfermedades hepáticas, otras parasitosis como leishmaniasis u otras enfermedades infectocontagiosas.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

### Sensibilidad y Especificidad

Se analizaron 653 muestras de pacientes que formaron parte de un estudio doble ciego realizado en el Centro de Referencia para el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas de Argentina. De las muestras analizadas, 308 muestras fueron (47 %) consideradas positivas y 345 negativas (53 %), de acuerdo a los resultados del Centro de Referencia Nacional y los obtenidos con productos comerciales de ELISA en el Laboratorio Lemos S.R.L. Se utilizó como referencia para determinar si las muestras eran positivas el resultado reactivo de dos de los tres ensayos diagnósticos realizados de rutina por el Centro de Referencia (HAI, IFI y ELISA), y negativas el resultado no reactivo de los tres ensayos diagnósticos realizados de rutina por el Centro de Referencia en combinación con los resultados de cuatro productos comerciales de tipo ELISA, dos de ellos basados en la utilización de antígeno total y dos basados en la utilización de antígeno recombinante.

Los resultados también se compararon con otra inmunocromatografía comercial.

CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE dio 96.4% de sensibilidad empleando sangre obtenida capilarmente, 95.1 de sensibilidad empleando sangre entera venosa y 92.2% de sensibilidad con muestras de suero. La sensibilidad de la inmunocromatografía comercial alternativa con sangre entera venosa (95.4%) fue similar a la del CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE (95.1%).

CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE		Positivos (n = 308)			
		Resultados Positivos	Resultados Negativos	Fallidos	Sensibilidad (%)
	Sangre Entera Capilar	295	11	2	96.4
	Sangre Entera Venosa	291	15	2	95.1
	Suero	284	24	0	92.2
Otra Inmuno-cromatografía	Sangre Entera Venosa	293	14	1	95.4

CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE dio 96.0% de especificidad empleando sangre obtenida capilarmente, 98.3 de especificidad empleando sangre entera venosa y 98.5% de especificidad con muestras de suero. La especificidad de la inmunocromatografía comercial alternativa con sangre entera venosa (98.3%) fue igual a la del CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE.

CHAGAS RAPIDO FIRST RESPONSE		Negativos (n = 345)			
		Resultados Negativos	Resultados Positivos	Fallidos	Especificidad (%)
	Sangre Entera Capilar	315	13	17	96.0
	Sangre Entera Venosa	339	6	0	98.3
	Suero	339	5	1	98.5
Otra Inmunocromatografía	Sangre Entera Venosa	339	6	0	98.3

Sobre un estudio realizado con 270 muestras de sueros de hemodadores provistos por un Servicio de Hemoterapia provenientes de individuos considerados aptos como donantes, la especificidad obtenida fue del 98,2 %.

Se evaluó en forma paralela 96 muestras de Suero y Sangre Entera Venosa. Con Sangre Entera Venosa, se obtuvo una concordancia del 98,0% para muestras consideradas reactivas y una concordancia del 96,0% para muestras consideradas no reactivas. Con Suero, se obtuvo una concordancia del 94,1% para muestras consideradas reactivas y una concordancia del 98,0% para muestras consideradas no reactivas.

En otro estudio se evaluó en paralelo 10 muestras de suero en comparación con muestras de plasma del mismo paciente con diferentes anticoagulantes, no obteniéndose diferencias entre ellos.

Se estudió la posible reacción cruzada con muestras con serología reactiva para otras parasitosis como Toxoplasmosis (56 muestras), Hidatidosis (33 muestras), Amebiasis (3 muestras) y cisticercosis (7 muestras), leishmaniasis (6 muestras), muestras provenientes de mujeres embarazadas (30 muestras), Factor Reumatoideo (12 muestras) otras enfermedades infectocontagiosas (10 muestras). En esta población la especificidad total fue del 98.7% sobre N = 157.

### **Precisión:**

*Intraensayo:* Se utilizó 3 muestras reactivas con reactividades diferentes y una muestra no reactiva. Cada una haciendo 10 replicados. Los resultados positivos y negativos se identificaron correctamente en todos los casos.

*Entrensayos:* Se utilizó 3 muestras reactivas con reactividades diferentes y una muestra no reactiva. Cada una haciendo 10 replicados durante 10 días diferentes leyendo dos operadores. Los resultados positivos y negativos se identificaron correctamente en todos los casos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Ministerio de Salud de la Nación, Instituto Nacional de Parasitología “Doctor Mario Fatała Chabén”. Argentina. Normas para el diagnóstico de la Infección Chagásica Resolución Ministerial N° 523/97.
2. Franco da Silveira, J.; Umezawa, E. and Luquetti, A.: Chagas disease: recombinant Trypanosoma cruzi antigens for serological diagnosis. Review Trends in Parasitology. Vol. 17 N° 6 June 2001.
3. Houghton, R.; Benson, D.; Reynolds, L. and col.: Multiepitope Synthetic Peptide and Recombinant Protein for the detection of Antibodies to Trypanosoma cruzi in Patients with Treated or Untreated Chagas’ Disease. Journal of Infectious Diseases 181:325-30 (2000).
4. Houghton, R.; Benson, D.; Reynolds, L. and col.: A multi-Epitope Synthetic Peptide and Recombinant Protein for the Detection of Antibodies to Trypanosoma cruzi in Radioimmunoprecipitation-Confirmed and Consensus-Positive Sera. Journal of Infectious Diseases 179:1226-34 (1999).

## **LABORATORIO LEMOS S.R.L.**

Director Técnico: Jorge O. Carradori. Bioquím. y Farm.

Santiago del Estero 1162.

C1075AAX. C.A.B.A. Argentina.

Telefax: (5411) 4304-2204/2374

E-mail: [info@lab-lemos.com.ar](mailto:info@lab-lemos.com.ar)

[www.lab-lemos.com.ar](http://www.lab-lemos.com.ar)

Autorizado por A.N.M.A.T. PM-1545-2

**USO PROFESIONAL-VENTA EXCLUSIVA  
A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS.**

Industria Argentina