

1. Uso previsto

El test NADAL® Chagas IgG es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* en muestras de suero, plasma o sangre completa humanas. Este test está indicado para el uso por parte de profesionales como test de detección, ayudando en el diagnóstico de una infección por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*).

Cualquier muestra reactiva con este test debe confirmarse con métodos alternativos de ensayo y otros hallazgos clínicos.

2. Introducción y significado clínico

La enfermedad de Chagas es una infección zoonótica transmitida por insectos y causada por el protozoario *T. cruzi*, el cual induce una infección sistémica en humanos con manifestaciones agudas y secuelas a largo plazo. Se calcula que entre 16 y 18 millones de personas están infectadas en todo el mundo, y cada año mueren aproximadamente 50.000 personas por la enfermedad crónica de Chagas (Organización Mundial de la Salud).¹ Los métodos más utilizados^{2,3} para el diagnóstico de una infección aguda por *T. cruzi* solían ser el examen de la capa de leucocitaria y el xenodiagnóstico. Sin embargo, ambos métodos consumen mucho tiempo o tienen escasa sensibilidad. Recientemente, las pruebas serológicas se han convertido en el método principal para el diagnóstico de las infecciones por Chagas. Los test basados en antígenos recombinantes, en particular, descartan las reacciones positivas falsas que se observan comúnmente en los test de antígenos nativos.⁴⁻⁵

El test NADAL® Chagas IgG permite la detección de IgG anti-*T. cruzi* en 15 minutos. Mediante la utilización de antígenos recombinantes específicos de *T. cruzi*, el test es a la vez altamente sensible y específico y no requiere un incómodo equipo de laboratorio.

3. Principio del test

El test NADAL® Chagas IgG es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral basado en el principio de inmunoensayos indirectos. La tira reactiva en el casete está compuesta por: 1) una almohadilla conjugada de color burdeos que contiene proteína A conjugada con oro coloidal (conjugados de proteína A), y 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de test (T) y una línea de control (C). Los antígenos recombinantes de *T. cruzi* se encuentran recubriendo la línea de test (T) y los anticuerpos anti-proteína A recubren la línea de control (C).

Cuando se añade un volumen adecuado de muestra al pocillo correspondiente (S), la muestra migra por acción capilar a lo largo del casete. Si la muestra contiene IgG anti-*T. cruzi*, se unirá al conjugado de la proteína A. El inmunocomplejo queda capturado en la membrana por los antígenos de *T. cruzi* que la recubren, formando una línea "T" de color burdeos, lo cual indica un resultado positivo del test para Chagas IgG. La ausencia de la línea "T" indica un resultado negativo.

El test contiene un control interno (línea de control "C"), según el cual, siempre debe aparecer una línea burdeos por el inmunocomplejo de anticuerpos anti-proteína A con conjugados de proteína A y oro, independientemente del desarrollo del color en la línea de test (T). En caso contrario, el

resultado no sería válido y se tendría que repetir la prueba con otro casete de test.

4. Reactivos y materiales provistos

- 30 test NADAL® Chagas IgG en formato casete (con desecante incluido)
- 30 pipetas
- 1 búfer "Buffer" (5 mL/bote)
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Reloj o cronómetro
- Dispositivo de punción para análisis de sangre completa
- Micropipeta

6. Almacenamiento y conservación

Todos los reactivos están listos para su uso tal como se suministran. Almacene los test cerrados a 2-30°C. Si los kits de test se almacenan a 2-8°C, asegúrese de llevarlos a temperatura ambiente antes de abrirlos. El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No congele los dispositivos ni los exponga a temperaturas por encima de los 30°C.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), para evitar su contaminación.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits de test.
- No utilice muestras hemolizadas para este test.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Utilice ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras. Lávese las manos en profundidad después de realizar el test.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Lea el resultado del test a los 15 minutos de haber dispensado la muestra al pocillo correspondiente del casete. Después de 15 minutos la lectura puede dar resultados erróneos.
- No realice la prueba en una habitación con corrientes de aire, como ventiladores eléctricos o aire acondicionado.

8. Recolección de muestras y preparación

Considere los materiales de origen humano como infecciosos y manipúelos utilizando los procedimientos estándar de bioseguridad.

Plasma

- Recolecte una muestra de sangre por punción venosa en un tubo recolector (con EDTA, citrato o heparina).
- Separe el plasma por centrifugación.
- Retire con cuidado el plasma en un tubo nuevo etiquetado.

Suero

- Recolecte una muestra de sangre por punción venosa en un tubo de recolección (que no contenga anticoagulantes).
- Deje que la sangre coagule.
- Separe el suero por centrifugación.
- Retire el suero con cuidado en un nuevo tubo etiquetado.

Tras su recolección, analice las muestras lo más pronto posible. Si las muestras de suero o plasma no se analizan inmediatamente, debe almacenarlas a 2-8°C hasta un máximo de 5 días. Para un almacenamiento más largo, congele las muestras a -20°C.

Evite ciclos múltiples de congelación-descongelación. Antes de realizar la prueba, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente y mézclelas bien. Las muestras que presenten partículas visibles se deben clarificar por centrifugación antes de analizarlas. No utilice muestras que presenten gran lipemia, hemólisis o turbidez, a fin de evitar interferencias en la interpretación del resultado.

Sangre

Las gotas de sangre completa se pueden obtener por punción digital o venosa. No utilice sangre hemolizada para la prueba. Las muestras de sangre completa se deben analizar dentro de las 24 horas posteriores a su recolección. Si no se va a realizar la prueba inmediatamente, refrigere las muestras de sangre completa a 2-8°C.

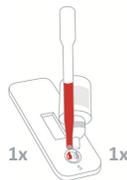
9. Procedimiento del test

Lleve a temperatura ambiente las muestras y componentes del test si han estado refrigeradas o congeladas. Una vez descongeladas las muestras, mézclelas bien antes de realizar el test.

1. Cuando esté todo listo para la prueba, abra la bolsa sellada y extraiga el casete de test. Sitúelo sobre una superficie limpia y plana.
2. Etiquete el casete de test con el número de identificación de la muestra.
3. **a) Para muestras de sangre completa:**

I. Utilizando una pipeta

- Sostenga la pipeta verticalmente y dispense 1 gota (aproximadamente 40-50 µl) de sangre completa en el pocillo para la muestra (S) del casete.
- Sostenga la botella verticalmente y añada inmediatamente 1 gota (aproximadamente 35-50 µl) del búfer al pocillo de la muestra (S).



II. Utilizando un cuentagotas

- Coloque el dedo del paciente de forma que la gota de sangre caiga exactamente sobre el pocillo para la muestra (S) del casete. Deje caer 1 gota de sangre completa de la



punta del dedo en el centro del pocillo para la muestra (S).

- Sostenga la botella verticalmente y añada inmediatamente 1 gota (aproximadamente 35-50 µl) del búfer al pocillo de la muestra (S).

b) Para muestras de suero o plasma:

- Utilizando una micropipeta, dispense 20 µl de la muestra de suero o plasma en el pocillo correspondiente (S) del casete de test.
- Sostenga el bote verticalmente y agregue inmediatamente 2 gotas (aproximadamente 70-100 µl) de búfer al pocillo de la muestra (S).



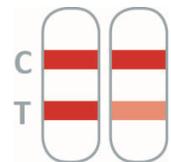
4. Active el cronómetro.
5. Lea los resultados del test a los 15 minutos. No interprete los resultados una vez pasados más de 15 minutos. Para evitar la confusión, elimine el casete de test una vez interpretado el resultado.



10. Interpretación del resultado

Positivo:

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana: una línea en la región de control (C) y la otra en la región de test (T).



El resultado indica la presencia de IgG anti-*T. cruzi* en la muestra.

Las muestras con resultados positivos se deben confirmar con métodos de test alternativos y teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos, antes de que se determine como positivo.

Negativo:

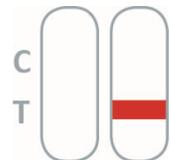
Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en el área de la línea de test (T).



El resultado del test indica que no hay IgG anti-*T. cruzi* en la muestra.

No válido

Si no aparece la línea de control (C), el test no es válido independientemente del desarrollo de color en la línea de test (T). Repita la prueba con un nuevo casete.



Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva tira reactiva. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

Control interno:

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

Control externo:

Se recomienda el uso de controles externos positivos y negativos para asegurar un rendimiento adecuado del test.

12. Limitaciones

- Siga estrictamente los apartados "Procedimiento del test" e "Interpretación del resultado" para detectar la presencia de IgG anti-*T. cruzi* en suero, plasma o sangre completa de sujetos individuales. El incumplimiento de la interpretación del procedimiento o de los resultados puede dar resultados incorrectos.
- El test NADAL® Chagas IgG se limita a la detección cualitativa de IgG anti-*T. cruzi* en suero humano, plasma o sangre completa. La intensidad de la línea de test no tiene correlación lineal con la cantidad de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado negativo para un sujeto individual indica la ausencia de IgG anti-*T. cruzi*. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición al virus o infección por *T. cruzi*.
- Esto puede suceder si la cantidad de IgG anti-*T. cruzi* presente en la muestra está por debajo del punto de corte del test o si los anticuerpos detectados no están presentes durante el estadio de la enfermedad en el que se ha recolectado la muestra.
- Las muestras que contienen cantidades inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoide, pueden afectar a los resultados esperados.
- Los resultados obtenidos con este test solo se deben interpretar junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

13. Características del rendimiento

Se analizaron un total de 214 muestras de sujetos susceptibles utilizando el test NADAL® Chagas IgG y un EIA IgG comercialmente disponible.

Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

Test NADAL® Chagas IgG	IgG EIA		
	+	-	Total
+	13	0	13
-	1	200	201
Total	14	200	214

Sensibilidad relativa: 92,9%

Especificidad relativa: >99,9%

Concordancia general: 99,5%

Reacciones cruzadas

Para evaluar la reactividad cruzada, se analizaron muestras de otras enfermedades infecciosas usando el test NADAL® Chagas IgG de acuerdo con el procedimiento estándar. No se observaron reacciones cruzadas con las muestras siguientes:

Muestras	Cantidad de muestras
Suero positivo para VHA	10
Suero positivo para VHC	10
Suero de dengue positivo	10
Suero positivo para VIH	10
Suero positivo para sífilis	10
Suero positivo para TB	10
Suero positivo para <i>H. pylori</i>	10
Suero positivo para ANA	6
Suero positivo para HAMA	4
Suero positivo para FR (≤2,500 UI/ml)	3

Interferencia

Se estudió la interferencia de las sustancias (como fármacos contra el dolor y la fiebre, componentes sanguíneos y suero positivo para diversas enfermedades) que se enumeran a continuación con el funcionamiento del test NADAL® Chagas IgG mediante 3 concentraciones de control estándar de Chagas IgG con estas sustancias.

Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

Nota: +: Positivo débil; ++: Positivo medio; +++: Positivo fuerte

Sustancias potencialmente interferentes	Test NADAL® Chagas IgG		
	Positivo débil	Positivo medio	Positivo fuerte
Control	+	++	+++
Albúmina 2000 mg/dL	+	++	+++
Cafeína, 1000 mg/dL	+	++	+++
Glucosa, 2000 mg/dL	+	++	+++
Hemoglobina, 100 mg/dL	+	++	+++
IgG humana 100 mg/dL	+	++	+++
EDTA 0,5 mM	+	++	+++
Heparina 2000 mg/dL	+	++	+++
Penicilina, G 1000 mg/dL	+	++	+++
Cetonas, 2000 mg/dL	+	++	+++
Suero positivo para dengue	+	++	+++
Suero positivo para HBsAg	+	++	+++
Suero positivo para VHC	+	++	+++
Suero positivo para VIH	+	++	+++
Suero positivo para sífilis	+	++	+++
Suero positivo para TB	+	++	+++

Los resultados demuestran que estas sustancias no afectan al rendimiento del test NADAL® Chagas IgG a las concentraciones analizadas.

Precisión intraensayo**Repetibilidad**

Se determinó la repetibilidad del test NADAL® Chagas IgG utilizando 10 muestras de 10 pacientes. Cada muestra del panel fue analizada por 2 técnicos de laboratorio en repeticiones de 20 dentro de 1 lote durante 20 días. Los resultados mostraron que el test NADAL® Chagas IgG tiene un 100% de repetibilidad.

Precisión interensayo**Reproducibilidad**

Se determinó la reproducibilidad del test NADAL® Chagas IgG utilizando 10 muestras de 10 pacientes. Cada muestra del panel fue analizada por 2 técnicos de laboratorio en repeticiones de 3 en cada uno de los 3 lotes en 3 sitios y en 3 días diferentes. Los resultados mostraron que el test NADAL® Chagas IgG tiene un 100% de reproducibilidad.

14. Referencias

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, Gonzalez 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.

Rev. 0, 2017-06-12 MP