



Confirmación visual con línea de control de reactivo



CG101

CHAGAS STAT-PAK®

Test rápido de dos pasos para la detección de anticuerpos *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma o sangre total

**SOLO PARA USO PROFESIONAL
SOLO PARA USO FUERA DE LOS ESTADOS UNIDOS (EEUU)
LEER LAS INSTRUCCIONES CUIDADOSAMENTE ANTES DE UTILIZAR ESTE
REACTIVO DIAGNOSTICO**

USO O APLICACION

El CHAGAS STAT-PAK de Chembio es un reactivo diagnóstico inmunocromatográfico de tamizaje para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en suero, plasma o sangre total. La prueba (también denominado dispositivo o cassette) para cada reacción es de uso único, NO puede ser reutilizado. Junto con otros criterios, esta reacción serológica es útil para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

FUNDAMENTO

La enfermedad de Chagas es causada por el *T. cruzi*, un parásito protozoario de humanos y de una variedad de especies animales, algunas de ellas domésticas. Es un problema importante de salud pública en América Latina, y de creciente preocupación en Estados Unidos y Europa debido al aumento de inmigrantes infectados [1,2]. En América Latina se estima que 120 millones de personas, o sea 25 % de la población, habitan áreas con riesgo de infección. Se estima en 18 millones el número de habitantes de zonas rurales y urbanas infectados por *T. cruzi* [2].

La mayor parte de los individuos infectados que se diagnostican serológicamente padecen la infección crónica y corren el riesgo de sufrir consecuencias cardíacas o digestivas. En ciertos casos, la enfermedad de Chagas puede conducir a una insuficiencia cardíaca fatal, hecho que acentúa la necesidad de un diagnóstico serológico temprano de la infección. El control y seguimiento de esta cardiopatía aumenta notoriamente la expectativa de vida del paciente [3, 4, 5].

La infección ocurre cuando un insecto hematófago de la familia de los Triatomíneos (vinchuca en el sur del continente, barbeiro en Brasil), se alimenta del huésped, momento en el que deposita defecaciones con *T. cruzi*. En países donde no se controla la infección en donantes de sangre, esta puede contraerse por vía transfusional.

Otras vías de infección son la transmisión materno-fetal (Chagas congénito) oral, en el caso de ingestión de productos contaminados por *T. cruzi* y eventualmente en ocasión de trasplante de órganos. En recién nacidos de madres con enfermedad de Chagas, la tasa de infección es de entre 3 a 10 % dependiendo de la región geográfica.

En la actualidad no existen vacunas o quimioterapias preventivas para la enfermedad. Sin embargo, hay medicamentos que son eficientes cuando se administran a niños en la fase aguda o crónica reciente de la infección.

Los antígenos recombinantes son una herramienta conveniente para mejorar los métodos de diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. También se dispone de una serie de reactivos de diagnóstico serológico basados en técnicas de inmunofluorescencia, hemaglutinación, fijación del complemento, radioinmunoensayo y ELISA [6,7,8].

El CHAGAS STAT-PAK de Chembio es un reactivo inmunocromatográfico que emplea una combinación única de antígenos recombinantes de *T. cruzi* para la detección específica de anticuerpos contra el parásito. Es rápido, simple, fácil de usar y puede ser almacenado a temperatura ambiente.

PRINCIPIOS

El CHAGAS STAT-PAK de Chembio es una reacción diagnóstica inmunocromatográfica de tamizaje para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*. El método emplea una combinación única de proteínas recombinantes fijada a una membrana que retiene los anticuerpos específicos, conjugados con partículas coloreadas. La reacción diagnóstica tiene un gran nivel de sensibilidad y especificidad.

La muestra se aplica en el pocillo SAMPLE. A medida que la muestra fluye lateralmente sobre la membrana, las inmunoglobulinas humanas se asocian a partículas coloreadas.

Si la muestra contiene anticuerpos anti-*T. cruzi*, estos se unirán al antígeno fijado a la membrana en el área denominada TEST produciendo una línea rosa-púrpura. En ausencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* esta línea no aparece. El CHAGAS STAT-PAK de Chembio proporciona al mismo tiempo, un control interno que detecta la presencia de IgG en la muestra. De esta manera, la muestra al continuar su migración producirá una línea rosa-púrpura en la zona CONTROL. La detección de esta línea demuestra que el reactivo está funcionando correctamente.

COMPONENTES DEL KIT STAT-PAK

Cada kit contiene los siguientes componentes para realizar 20 determinaciones:

- 20 pruebas Chembio CHAGAS STAT-PAK
- 20 tubos Microsafe® (10µL) para coleccionar sangre capilar
- 1 botella de diluyente (6mL)
- 1 instructivo

Material adicional requerido (no provisto):

- Reloj
- Pipeteador (5µL para suero o plasma; para sangre usar 10µL)
- Para toma de sangre capilar, lancetas estériles descartables luego de una única punción
- Gasa estériles con alcohol

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El CHAGAS STAT-PAK se debe almacenar a una temperatura entre 8-30° C en su envase original sellado. La botella de diluyente se debe almacenar a 8-30° C, el kit es estable hasta la fecha impresa en el rótulo de la caja y/o envase original.

NOTA: No use reactivos con fecha de validez vencida!

PRECAUCION: NO CONGELAR NINGUNO DE LOS COMPONENTES DE ESTE REACTIVO DIAGNOSTICO.

PRECAUCIONES

1. Las pruebas son para USO DIAGNOSTICO *IN VITRO* únicamente. Solo para USO PROFESIONAL. Cada reacción solo debe usarse de acuerdo a las instrucciones adjuntas en el kit.

2. Manipule todas las muestras como se recomienda en el manual de CDC-NIH, Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos, 4º Ed.1999 para cualquier muestra de suero o sangre humana potencialmente infecciosa.
3. Use ropa con la protección conveniente (guantes, guardapolvo o bata de laboratorio, lentes de seguridad) cuando manipule muestras. Durante la toma de muestra o el examen, evite cualquier contacto con las manos, ojos, nariz o boca.
4. No pipetee ningún material con la boca. No fume, coma o beba en áreas donde hay muestras o reactivos.
5. Después de completar el ensayo, autoclave todo el material por 1 hora a 125°C. Alternativamente, el material puede ser tratado con una solución de hipoclorito de sodio al 10%. Descarte el material cuidadosamente en bolsas de bioseguridad.
6. No mezclar reactivos de lotes diferentes.

TOMA DE MUESTRA

El CHAGAS STAT-PAK de Chembio es una reacción diagnóstica que se realiza en sangre total, suero o plasma.

Sangre total: Colectar sangre total en tubos conteniendo heparina, EDTA o citrato de sodio. Para sangre capilar, pinche el dedo y descarte la primera gota. Colecte la segunda gota con un tubo Microsafe® descartable de 10µL (provistos). **No presione el dedo demasiado fuerte.** Siga el procedimiento indicado en las instrucciones.

Suero: El suero es obtenido de la sangre total tomada asépticamente por punción venosa en un tubo limpio sin anticoagulante. Permita la coagulación de la sangre a temperatura ambiente. Centrifugar la sangre a 2000 r.p.m. por 10 minutos a temperatura ambiente. Separe el suero del coágulo lo más rápidamente posible para evitar hemólisis.

Plasma: Colecte sangre total con anticoagulante (heparina, EDTA o citrato de sodio), centrifugue a 2000 r.p.m. por 10 minutos y separe el plasma sobrenadante.

Es mejor realizar las reacciones inmediatamente después de la toma de muestra. Las muestras deberán ser refrigeradas inmediatamente después de la toma de muestra a 2-8°C y pueden ser usadas dentro de los 3 días subsiguientes. Si no es posible realizar la prueba en 3 días, las muestras deberán ser congeladas (-20°C o a temperatura más bajas).

NOTA: Si las muestras son enviadas, deberán ser empaquetadas de acuerdo con las regulaciones de transporte de agentes infecciosos.

CONFIRMACION VISUAL DE LA LINEA DE CONTROL DE REACTIVOS

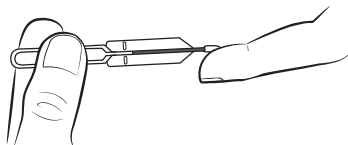
El CHAGAS STAT-PAK de Chembio es la única reacción diagnóstica rápida que proporciona una confirmación visual de la línea de control de reactivos ANTES de realizar el ensayo. Cuando vea la prueba, notará que hay una banda coloreada de AMARILLO en el área de CONTROL. Este complejo coloreado indica que los reactivos necesarios para que la prueba funcione correctamente ESTAN presentes y activos. Después agregar la muestra, la banda AMARILLA migra a lo largo de la membrana con el frente de corrida del conjugado coloreado y sale completamente del prueba.

Cuando la prueba finaliza, se observará la línea rosa-púrpura en el área CONTROL del prueba en muestras positivas o negativas (esto sirve como un control interno de inmunoglobulina G - IgG) y confirma que la reacción se realizó correctamente. Una línea rosa-púrpura en las áreas TEST y CONTROL indica un resultado positivo.

PROCEDIMIENTO

1. Si la muestra está refrigerada, sáquela del refrigerador y permita que alcance temperatura ambiente antes de realizar la reacción.

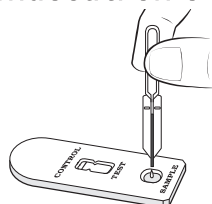
2. Saque el número de tacos de CHAGAS STAT-PAK de sus envolturas rasgando a lo largo del área de la muesca y póngalos en una superficie plana.
3. Identifique la prueba con el nombre del paciente o un número de identificación.
4. Para sangre capilar, pinche el dedo y descarte la primera gota. Colecte la segunda gota con un tubo Microsafe® sosteniéndolo en posición horizontal como se muestra en la figura:



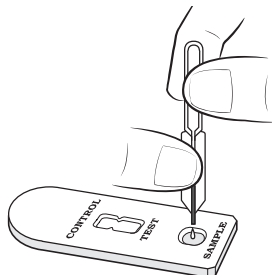
NUNCA PRESIONE EL BULBO DEL TUBO MIENTRAS TOMA LA MUESTRA

Tocar con la punta del tubo la gota de sangre, la cual por capilaridad, llegará hasta la línea de llenado.

5. Depositar la muestra en el centro del pocillo SAMPLE.



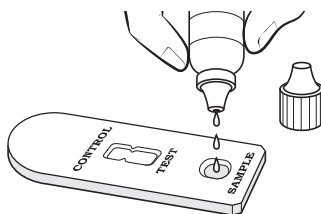
SOLO SI LA MUESTRA NO SALE DEL TUBO, sostenga el Microsafe® Tube verticalmente y deslice el dedo sobre el agujero de respiradero cerca de la línea negra. Después alíne la extremidad con el pocillo SAMPLE y presione el bulbo



Si analiza una muestra que no sea de sangre capilar utilice una pipeta exacta y agregue la cantidad requerida en el pocillo de muestra (SAMPLE)

- a) suero o plasma: 5µL
- b) sangre total: 10µL

6. Invertir la botella de diluyente y sostenerla verticalmente (no angularmente) sobre el pocillo de la muestra SAMPLE. Añadir el diluyente lentamente gota a gota, 6 gotas (~240µL) en el pocillo SAMPLE.



7. Lea los resultados dentro de los 15 minutos después del agregado del diluyente. Espere que trascurren 15 minutos para tomar en consideración un resultado negativo.

No leer ningún resultado después de los 15 minutos.

NOTA: El volúmen de la muestra es crítico, use una pipeta de precisión. Si coloca más de 5µL de suero o plasma o más de 10µL de sangre la sensibilidad disminuye

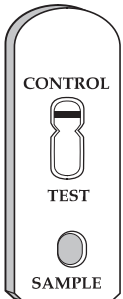
CONTROL DE CALIDAD

Una línea de color rosa-púrpura aparecerá siempre en el área de CONTROL si la prueba se realizó correctamente y el taco está trabajando apropiadamente. Esto sirve como control interno para demostrar la presencia de IgG.

Las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) recomiendan el uso de materiales de control junto con las muestras para asegurar el funcionamiento correcto del kit. Controles comerciales de suero o plasma positivos y negativos deberán ser usados para este propósito. Use los controles, según las instrucciones del PROCEDIMIENTO de este instructivo.

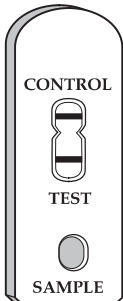
INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Resultado Negativo



Una sola línea color rosa-púrpura, en el área CONTROL, y ninguna en el área TEST indica un resultado negativo. Un resultado negativo a los 15 minutos indica que no se detectaron anticuerpos anti-*T. cruzi* en la muestra.

Resultado Positivo

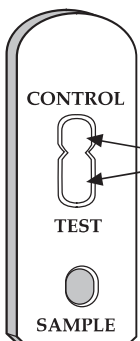


La aparición en el plazo de 15 minutos de dos líneas color rosa-púrpura, una en el área CONTROL y otra en el área TEST, indican un resultado positivo. La intensidad de la línea en el área TEST puede ser diferente de la línea del área de CONTROL (ver nota).

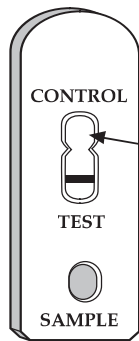
NOTA: Las intensidades de las líneas TEST Y CONTROL pueden variar. Si una línea visible aparece en el área TEST, aunque sea muy tenue, y otra aparece en el área CONTROL, el resultado es POSITIVO.

Resultado Invalido

Una línea de color rosa-púrpura aparecerá siempre en el área CONTROL, aparezca o no la línea TEST. Si no se ve la línea rosa-púrpura en el área CONTROL, la prueba NO es válida. y deberá repetirse usando un nuevo taco.



No TEST or CONTROL line



No CONTROL line

Un resultado inválido indica un problema de funcionamiento relacionado con la muestra o con el taco. Si Ud. no puede obtener un resultado válido luego de repetir el ensayo, contáctese con Chembio Diagnostic Systems al +1-631-924-1135 o a info@chembio.com.

RESULTADOS ESPERADOS

Esta es una reacción diagnóstica cualitativa para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* en sangre, suero o plasma. La presencia de anticuerpos sugiere infección con *T. cruzi* y da una reacción positiva. En ausencia de infección se observara un resultado negativo. Estas conclusiones se basan en el análisis de más de 5,000 reacciones realizadas con el CHAGAS STAT-PAK en varios países de América Latina.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El procedimiento del CHAGAS STAT-PAK y la interpretación de los resultados deberá ser realizado correctamente. El taco está diseñado para detectar anticuerpos contra *T. cruzi* en suero humano, plasma o sangre total. Ningún resultado de este ensayo con otros líquidos corporales, de pool de sueros o plasma puede ser tenido en cuenta.

Para confirmar la reacción de muestras positivas por inmunocromatografía es recomendable realizar una prueba más específica de referencia, junto con una evaluación clínica de los pacientes antes de llegar a un diagnóstico definitivo. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección con *T. cruzi*.

CARACTERISTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El CHAGAS STAT-PAK utiliza una mezcla de proteínas recombinantes que fija anticuerpos específicos. La sensibilidad del CHAGAS STAT-PAK es equivalente a la de otros reactivos diagnósticos comerciales para la enfermedad de Chagas.

Sensibilidad y especificidad

Se realizaron ensayos clínicos para evaluar el CHAGAS STAT-PAK de Chembio. En un estudio [9], se evaluó un panel de 393 muestras de sueros codificados de pacientes de áreas endémicas del Brasil. 200 de estas muestras eran de pacientes chagásicos muy bien definidos y se incluyeron en este estudio 150 muestras de individuos sanos. Las 350 muestras fueron confirmadas por serología convencional (inmunofluorescencia indirecta, IIA, hemaglutinación indirecta HAI, y ELISA). Se observaron los siguientes resultados:

		CHAGAS STAT-PAK		
		Positivo	Negativo	Total
IIA/ IHA/ ELISA	Positivo	197	3	200
	Negativo	6	144	150
	Total	203	147	350

Los resultados muestran una sensibilidad de 98.5% y una especificidad de 96.0%. Además, se examinaron 43 sueros de individuos que no estaban infectados con *T. cruzi*, pero que tenían otras infecciones: (N=9) leishmaniasis visceral, (N=10) leishmaniasis muco-cutánea, (N=3) SIDA, (N=11) hepatitis B. También se analizaron diez pacientes con enfermedades autoinmunes. Solo 4 sueros de los 43 (N=2 con leishmaniasis visceral y N=2 con hepatitis B) dieron un resultado positivo con CHAGAS STAT-PAK. Así, para los 193 sueros de individuos sin enfermedad de Chagas, el reactivo dio una especificidad de 94.8%. Es importante mencionar que de las 19 muestras de pacientes con leishmaniasis, 10 habían sido diagnosticados positivos para *T. cruzi* por métodos de

serología convencional (IIA, HAI, ELISA).

En el mismo estudio [9], con 352 muestras de suero de 4 países diferentes de Latinoamérica, el CHAGAS STAT-PAK exhibió una sensibilidad de 100% y una especificidad de 98.6%, comparado con serología convencional (IIA, HAI, ELISA). Esos resultados se detallan en el siguiente cuadro:

País	Nº De Individuos	Chagasicos	No Chagasicos
		STAT-PAK Positivos / Total	STAT-PAK Positivos / Total
Honduras	204	157/157	0/47
Venezuela	45	40/40	0/5
Bolivia	21	10/10	0/11
Argentina	82	72/72	1/10
Totale	352	279/279	1/73

Otro estudio se realizo analizando 5998 sueros de individuos de Honduras, El Salvador y Nicaragua. Se comparo el CHAGAS STAT-PAK con un test comercial ELISA [10].

		CHAGAS STAT-PAK		
		Positivo	Negativo	Total
ELISA	Positivo	1328	3	1331
	Negativo	0	4667	4667
	Total	1328	4670	5998

La sensibilidad y la especificidad del CHAGAS STAT-PAK comparada con el ELISA fué de 99.8% y 100% respectivamente.

De los 5998 sueros, 3400 eran de donantes de sangre y se encontró un nivel de reacciones positivas de 4.6%, usando ambos reactivos, CHAGAS STAT-PAK y ELISA. Para estos 3400 sueros, la correlación entre el ELISA y el CHAGAS STAT-PAK fue de 100%.

Precisión

Intraensayo

Dentro de una misma corrida, la precisión fué determinada usando 10 replicas de tres sueros con diferentes concentraciones de anticuerpos. Los valores negativos y positivos se identificaron correctamente en un 100 % de las reacciones.

Interensayo

Entre diferentes corridas, la precisión fue determinada usando las mismas tres muestras, en 10 replicas diferentes con tres kits de lotes diferentes, durante un periodo de 6 meses. De igual manera, los resultados positivos y negativos concordaron en un 100 % de los casos.













Interferencias y reacciones cruzadas

La reacción CHAGAS STAT-PAK fue evaluada usando varios sueros con diferentes títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* y muestras con diversas sustancias. No se observo interferencia alguna de bilirrubina, hemoglobina y triglicéridos con la reacción CHAGAS

STAT-PAK. Niveles de factor reumatoideo de hasta de 80 IU/ml no interfieren con el ensayo, pero niveles mas altos pueden dar falsos positivos. En este estudio no se observaron reacciones cruzadas de sueros de pacientes con Leishmaniasis cuando se uso CHAGAS STAT-PAK.

REFERENCIAS

1. TDR Strategic Direction: Chagas disease (2002) Strategic Direction for Research: Chagas Disease. UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), available at www.who.int/tdr.
2. Morel, C.M., Lazdins, J. (2003) Chagas Disease. *Nat Rev Microbiol* 1: 14-15.
3. Tarleton RL, Zhang L (1999) Chagas disease etiology: autoimmunity or parasite persistence. *Parasitol Today* 15 : 94-99.
4. Schijman, A.G., Vigliano, C.A., Viotti, R.J., Burgos, J.M., Brandariz, S., Locono, B.E., Leze, M.I., Armenti H.A., Levin, M.J. (2004) *Trypanosoma cruzi* DNA in cardiac lesions of Argentinean patients with end-stage chronic Chagas heart disease. *Am J Trop Med Hyg* 70 : 210-220.
5. Kirchhoff, L.V. (1996) American trypanosomiasis (Chagas' disease). *Gastroenterol Clin North Am* 25 : 517-533.
6. Krieger MA, Almeida E, Oelemann W (1992) Use of recombinant antigens for the accurate immunodiagnosis of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 46 : 427-434.
7. Levin MJ, Franco da Silveria J, Frasc ACC, et al. (1991) Recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens and chagas' disease diagnosis : analysis of a workshop. *FEMS Microbiol Immunol* 89 : 11-20.
8. da Silveira, J.F., Umezawa, E.S., Luquetti, A.O. (2001) Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Parasitol Today* 17 : 286-291.
9. Luquetti, A.O., Ponce, C., Ponce, E., Esfandiari, J., Schijman, A., Revollo, S., Añez, N., Zingales, B., Rangel-Aldao, R., Gonzalez, A., Levin, M., Umezawa, E.S., da Silveira, J.F. (2003) Chagas' disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas STAT-PAK, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *Diag Microbiol Infect Dis* 46:265-271.
10. Ponce, C., Ponce, E., Vinelli, E., Montoya, A., de Aguilar, V., Gonzalez, A., Zingales, B., Rangel-Aldao, R., Levin, M., Esfandiari, J., Umezawa, E.S., Luquetti, A.O., da Silveira, J.F. (2005) Validation of a Rapid and Reliable Test for Diagnosis of Chagas' Disease by Detection of *Trypanosoma cruzi*-Specific Antibodies in Blood of Donors and Patients in Central America. *J Clin Microbiol* 43: 5065-5068.

LEYENDA DE SÍMBOLO	
	CONSULTE EL MANUAL ANTES DE USAR
	PRECAUCIÓN, CONSULTE LOS CORRESPONDIENTES DOCUMENTS
	NO VOLVER A USAR
	PARA USAR DENTRO DE LÍMITES DE TEMPERATURA
	DISPOSITIVO MÉDICO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO
	CÓDIGO DE LOTE
	NÚMERO DE CATÁLOGO DEL PRODUCTO
	IDENTIFICACIÓN DEL FABRICACIÓN
	FECHA DE FABRICACIÓN
	USAR HASTA LA FECHA
	EL KIT CONTIENE CANTIDAD SUFICIENTE PARA 20 PRUEBAS
	MARCA CE

PARA MAS INFORMACION, CONTACTE
 **CHEMBIO DIAGNOSTIC SYSTEMS, INC.**
 3661 HORSEBLOCK ROAD
 MEDFORD, NY 11763
 USA
 Tel : (631) 924-1135
 Fax : (631) 924-2065
 Email : info@chembio.com
 Web Site : www.chembio.com



INFORMACION DE ORDENES

 **CG101 CHAGAS STAT-PAK®**



EMERGO EUROPE
 Prinsessegracht 20
 2514 AP The Hague
 The Netherlands