

CHAGAS Ab

(Suero/Plasma/Sangre Total)
Oro Coloidal.

Prueba de detención rápida de anticuerpo Chagas Ab en suero, plasma y sangre total de un paso.

Uso:

Esta prueba rápida es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos T. Cruzi para la determinación de Chagas Ab, puede ser realizado en sangre total, suero o plasma.

Principio:

La prueba de Chagas Ab es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral basado en el principio del inmunoensayo indirecto. El cassette de la prueba consta de una almohadilla de conjugado de color rojo que contiene proteína A conjugada con oro coloidal (conjugados de proteína A) y una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una banda de prueba (banda T) y una banda de control (banda C). La banda T está recubierta previamente con antígenos recombinantes de T. cruzi, y la banda C está recubierta previamente con anticuerpos anti-proteína A. Cuando se introduce un volumen adecuado de muestra en el pocillo del cassette de prueba, la muestra migra por acción capilar a través de la cassette. Los anticuerpos IgG contra T. cruzi, si están presentes en la muestra, se unirán a los conjugados de proteína A. El inmunocomplejo es capturado a continuación en la membrana por los antígenos de T. cruzi prereducidos, formando una banda T de color rojo, lo que indica un resultado positivo de anticuerpos contra el Chagas en la prueba. La ausencia de la banda T sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (banda C) que debe mostrar una banda de color rojo correspondiente al inmunocomplejo formado por el anticuerpo anti-proteína A y los conjugados de proteína A con oro, independientemente del color que se desarrolle en la banda T. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válida y la muestra debe volver a analizarse con otro cassette.

Almacenamiento y Estabilidad:

Almacene el kit de prueba por debajo de 2 °C a 35 °C. No congelar. Utilice el kit hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Recolección de la Muestra:

• Suero o plasma:
(EDTA, citrato o heparina) o plasma sin hemólisis. Analice las muestras lo antes posible tras su recogida. Almacene las muestras a 2 °C y 8 °C si no se analizan inmediatamente.

Estables hasta 5 días a 2 °C y 8 °C o congeladas a -20 °C para un almacenamiento más prolongado. Evite los ciclos múltiples de congelación-descongelación. Antes del análisis, deje que las muestras congeladas alcancen la temperatura ambiente lentamente y mézclelas con cuidado. Las muestras que contengan partículas visibles deben clarificarse mediante centrifugación antes del análisis. No utilice muestras que presenten lipemia grave, hemólisis grave o turbidez, a fin de evitar interferencias en la interpretación de los resultados.

• Sangre Total:

Las gotas de sangre total pueden obtenerse mediante punción en la yema del dedo o punción venosa. No utilice sangre hemolizada para el análisis.

Consérvelas a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C si no se analizan inmediatamente. Las muestras deben analizarse en un plazo de 24 horas tras su recogida. Considere cualquier material de origen humano como infeccioso y manipúlelo siguiendo los procedimientos estándar de bioseguridad.

Precauciones:

• Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de fecha de caducidad.
• No coma, beba ni fume en la zona donde se manipulen las muestras o los kits.

• Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observar las precauciones establecidas contra los agentes microbiológicos durante la realización de las pruebas y siga los procedimientos para la correcta eliminación de las muestras.
• Utilice ropa protectora, como batas de laboratorio guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
• La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

Materiales Proporcionados:

• Cassettes. La cantidad de cassettes de pruebas están indicadas en la caja.
• Buffer.
• Inserto: 1 copia.

Materiales Requeridos (Pero no provistos):

• Recipientes de recogida de muestras
• Lancetas (sólo para punción digital de sangre total).
• Tubos capilares heparinizados desechables y pera dosificadora (sólo para punción digital de sangre total).
• Centrifugadora (sólo para plasma).
• Temporizador.

Procedimiento de la Prueba:

1. Deje reposar el cassette de análisis, la muestra y el buffer durante 15-30 minutos, y deje que alcancen la temperatura ambiente (10-30 °C).
2. Abra la bolsa de papel de aluminio del cassette de prueba y coloque el cassette sobre una superficie plana.
3. Anote el identificador de la muestra en la carcasa de plástico del cassette de análisis.
4. Detección de la muestra.

A. Muestras de sangre total:

1. Añada 1 gota de muestra de sangre total (aproximadamente 40-50 µL) al pocillo de muestra del cassette de prueba.
2. Inmediatamente, añada 1 gota del buffer al pocillo de muestra del cassette de prueba.
3. Espere a que aparezcan las bandas de color. El resultado debe leerse en un plazo de 15 minutos. No lea los resultados después de 15 minutos.

B. Muestras de suero o plasma:

1. Añada 20 µL de suero o plasma al pocillo de muestra del cassette de prueba.
2. Inmediatamente, añada 2 gotas del buffer al pocillo de muestra del cassette de prueba.
3. Espere a que aparezcan las bandas de color. El resultado debe leerse en un plazo de 15 minutos. No interprete el resultado transcurridos 15 minutos.



Negativo



Positivo



Inválido

Interpretación de los Resultados:

Negativo: Solo aparece una línea roja en la zona de control de calidad (C) y no aparece ninguna línea en la zona de prueba (T).

Positivo: Aparecen dos líneas rojas en la zona de prueba (T) y una línea roja en la zona de control de calidad (C).

No válido: No aparece ninguna línea roja en el área de control de calidad (C). Esto indica que el procedimiento no se ha realizado correctamente o que el cassette de prueba está deteriorado o dañado. Repita la prueba con un nuevo kit. Si el problema persiste, deje de utilizar este número de lote inmediatamente y póngase en contacto con su proveedor local.

Limitaciones del Procedimiento:

1. El procedimiento de análisis y la interpretación de los resultados deben seguirse al pie de la letra al detectar la presencia de anticuerpos anti-T. cruzi en el suero, el plasma o la sangre total de sujetos individuales. El incumplimiento del procedimiento puede dar lugar a resultados inexactos.
2. La prueba Chagas Ab se limita a la detección cualitativa de anticuerpos anti-T. cruzi en suero, plasma o sangre total humanos. La intensidad de la banda de la prueba no presenta una correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.
3. Un resultado negativo en un sujeto concreto indica la ausencia de anticuerpos anti-T. cruzi detectables. Sin embargo, un resultado negativo en la prueba no descarta la posibilidad de exposición o infección por T. cruzi.
4. Puede darse un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos anti-T. cruzi presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si los anticuerpos detectados no están presentes durante la fase de la enfermedad en la que se recoge la muestra.
5. Algunas muestras que contengan un título inusualmente alto de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoide pueden afectar a los resultados esperados.
6. Los resultados obtenidos con esta prueba solo deben interpretarse en combinación con otros procedimientos diagnósticos y hallazgos clínicos.
7. Cualquier muestra reactiva en la prueba de anticuerpos contra el Chagas debe confirmarse mediante métodos de análisis alternativos y hallazgos clínicos.

Control de Calidad:

Los controles internos de procedimiento se incluyen en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es un control positivo interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. De no observarse ninguna línea en la zona de control (C) de la membrana de reacción, significa que la muestra no se ha añadido correctamente o que la prueba podría haberse deteriorado.

Análisis de sensibilidad y especificidad:

Se analizaron un total de 214 muestras de sujetos susceptibles mediante la prueba rápida de Chagas Ab y mediante una prueba comercial de IgG EIA. En la siguiente tabla se muestra la comparación para todos los sujetos:

IgG EIA	Chagas Ab		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	13	1	14
Negativo	0	200	200
Total	13	201	214

Sensibilidad diagnóstica: 92,9 %.

Especificidad diagnóstica: 100 %.

Tasa de coincidencia global: 99,5 %.

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.

