



WL Check

Chagas

Para la detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera

SIGNIFICACION CLINICA

La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana) es una infección parasitaria producida por el *Trypanosoma cruzi*. El diagnóstico de laboratorio depende del estadio en el cual se encuentre la enfermedad. Durante la fase aguda, el diagnóstico se efectúa directamente mediante la comprobación de los parásitos en sangre o por métodos inmunológicos que detecten anticuerpos tipo IgM. Durante la fase crónica, se pueden utilizar métodos inmunológicos como: hemaglutinación, inmunofluorescencia, ensayo inmunoenzimático o Western blot. Dado que ninguno de estos tests reúne, individualmente, las condiciones óptimas de sensibilidad y especificidad, se recomienda el uso en paralelo de al menos dos tests serológicos distintos para confirmar la infección por *T. cruzi*.

En los últimos años, se han desarrollado pruebas rápidas inmunocromatográficas basadas en antígenos recombinantes. Por su simpleza y rapidez, estas pruebas constituyen una herramienta complementaria de gran utilidad, tanto para ensayos epidemiológicos de campo como para el diagnóstico clínico, facilitando de esta manera la detección precoz de la infección.

WL Check Chagas es una prueba rápida basada en una combinación especial de antígenos recombinantes capaces de detectar la presencia de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera.

FUNDAMENTOS DEL METODO

WL Check Chagas es un ensayo inmunocromatográfico "in vitro" para la detección cualitativa de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera. La prueba consta de un cassette plástico que contiene:

- una membrana de nitrocelulosa sensibilizada, en la zona de prueba "T", con antígenos recombinantes específicos de los estadios epimastigote y tripomastigote de *T. cruzi*.

- un parche impregnado con antígenos recombinantes específicos de *T. cruzi* conjugados a oro coloidal.

La muestra y el buffer se agregan en el pocillo de muestra "S" solubilizando y mezclándose con el conjugado de antígenos recombinantes. Seguidamente, esta mezcla migra por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa. Si la muestra es reactiva, los anticuerpos anti-*T. cruzi* presentes, formarán un complejo con los antígenos conjugados a oro coloidal. Este complejo se unirá posteriormente a los antígenos inmovilizados en la zona de prueba "T" de la membrana de nitrocelulosa, formando así una línea de color rosa-rojo púrpura. La ausencia de dicha línea indica un resultado negativo. Como control de procedimiento, la prueba incluye una zona de control "C" de color amarillo que cambia a color

rosa-rojo púrpura tras el paso de la muestra. La ausencia de esta línea invalida los resultados.

MATERIAL PROVISTO

A. Reactivo A: cassette plástico compuesto por una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con antígenos recombinantes específicos de *Trypanosoma cruzi* y conjugado de antígenos recombinantes.

B. Reactivo B: buffer fosfato de sodio 50 mM, azida sódica 0,90 g/L, agente tensioactivo, pH = 8,0.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

El material provisto es listo para usar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipeta para medir los volúmenes indicados.
- Dispositivo de 40 uL descartable para toma de sangre entera capilar (sólo provisto en algunas presentaciones).
- Tips descartables.
- Reloj alarma o cronómetro.
- Material para extracción de muestra.
- Lanceta para toma de sangre entera capilar.
- Guantes descartables, guardapolvo, protección ocular.
- Contenedor para el descarte de residuos biológicos.
- Hipoclorito de sodio.

PRECAUCIONES

- Leer el manual de instrucciones de manera completa antes de realizar el ensayo y seguir las instrucciones cuidadosamente.
- No utilizar la prueba si el envase está dañado.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de vencimiento indicada en el envase.
- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Esta prueba proporciona un resultado cualitativo y visual. Es necesaria una buena fuente de luz para la visualización de los resultados.
- No mezclar reactivos de diferentes lotes.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No tocar la membrana de nitrocelulosa con los dedos.
- Seguir las prácticas de seguridad biológica al utilizar muestras y reactivos:
 - Manipular todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.
 - Utilizar guantes, guardapolvo y protección ocular.
 - No pipetear con la boca.
 - Limpiar y desinfectar las salpicaduras de muestra o reactivos usando hipoclorito sódico (concentración final 5%)

u otro desinfectante adecuado. Para inactivar el material empleado autoclavar durante 1 hora a 121°C.

- Evitar la formación de burbujas en el pocillo de muestra "S" tanto al colocar la muestra como el Reactivo B.
- Durante la realización de la prueba, colocar el cassette sobre una superficie limpia, plana y sin vibraciones.
- No agitar el cassette durante la realización del ensayo.
- El cassette es descartable, no reutilizar. Desechar en recipientes destinados a residuos con riesgo biológico.
- El Reactivo B posee azida sódica en bajas concentraciones como conservante.
- Los reactivos y las muestras deben ser descartados de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

El kit es estable entre 2 y 30°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. En caso de almacenar refrigerado, asegurarse que el sobre alcance temperatura ambiente antes de ser utilizado, de lo contrario se favorecerá la humectación del contenido.

El cassette debe permanecer en su sobre original sellado. No abrir el envoltorio hasta el momento de usar.

MUESTRA

Suero, plasma y sangre entera obtenida por punción venosa o punción capilar.

a) Recolección: recoger las muestras asépticamente y de manera tal de evitar hemólisis.

- Suero: obtener el suero de la manera usual. Separar el coágulo dentro de las dos horas posteriores a la obtención. Puede utilizarse suero obtenido en tubos con acelerador y gel separador.
- Plasma: utilizar plasma recogido con EDTA, citrato o heparina.
- Sangre entera (punción venosa): utilizar sangre recogida con EDTA, citrato o heparina.
- Sangre entera (punción capilar): utilizar sangre recogida con el dispositivo de 40 uL descartable (sólo provisto en algunas presentaciones). Realizar la prueba inmediatamente. En caso de utilizar otro dispositivo, es responsabilidad del usuario validar el dispositivo de toma de sangre entera capilar.

Obtención de sangre entera capilar

- 1- Recoger la muestra de la punta del dedo mayor o anular. De ser necesario calentar la mano del paciente para aumentar el flujo sanguíneo. Para ello utilizar una toalla caliente y húmeda o agua caliente (< 42°C).
- 2- Limpiar el dedo con solución acuosa de isopropanol al 70% v/v y dejar que seque. Restos de isopropanol pueden causar la hemólisis de la muestra.
- 3- Colocar la mano con la palma hacia arriba y sostener el dedo del paciente firmemente.
- 4- Utilizar una lanceta nueva para cada paciente. Colocar la lanceta en forma perpendicular a la superficie de la piel. Punzar con firmeza la punta del dedo, sobre la falange distal.
- 5- Desechar la lanceta en un contenedor adecuado para objetos punzantes y con riesgo biológico.
- 6- Mantener el dedo por debajo de la altura del codo y presionar suavemente la base del dedo a intervalos regulares.
- 7- Absorber la primera gota de sangre con una gasa estéril

y descartar en un recipiente adecuado. De esta manera se asegura la eliminación del líquido tisular de la muestra, evitando así resultados erróneos.

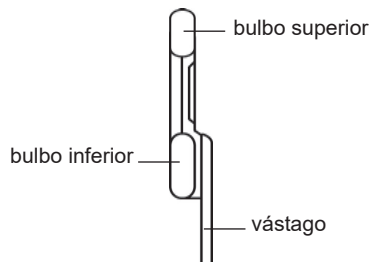
8- Tomar la muestra de sangre con el dispositivo descartable provisto. Para ello:

8a- Sostener el dispositivo en forma vertical y con un ligero ángulo de inclinación respecto a la superficie de la piel. Presionar el bulbo superior.

8b- Tomar la muestra de sangre hasta llenar el vástago, para lo cual se debe soltar el bulbo superior suavemente evitando así la formación de burbujas.

8c- Agitar el dispositivo suavemente y con cuidado de no salpicar. El exceso de muestra debe quedar retenido en el fondo del bulbo inferior. Es muy importante tomar esta precaución para evitar dispensar un exceso de sangre.

8d- Presionar el bulbo superior y descargar los 40 uL de muestra contenidos en el vástago sobre el pocillo de muestra "S".



b) Estabilidad y almacenamiento:

- Suero y plasma: conservar entre 2 y 10°C. En caso de no realizar la prueba dentro de los 3 días conservar la muestra a -20°C. No es recomendable realizar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento. Esto puede generar resultados erróneos. En caso de utilizar muestras congeladas, éstas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de usar.
- Sangre (punción venosa): puede almacenarse hasta 3 días entre 2 y 10°C. No congelar.
- Sangre (punción capilar): utilizar inmediatamente. No congelar.

c) Sustancias Interferentes: no se ha observado interferencia por:

- . Hemólisis: hasta 1,1 g/dL de hemoglobina.
- . Lipemia: hasta 1500 mg/dL de triglicéridos.
- . Bilirrubina: hasta 30 mg/dL.
- . Ácido ascórbico: hasta 50 mg/dL.

d) Transporte: si las muestras deben ser transportadas, embalar de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

PROCEDIMIENTO

- 1- Los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente (18 a 30°C) antes de utilizar.
- 2- Extraer el cassette de su sobre sellado inmediatamente antes de utilizar.
- 3- Colocar el cassette sobre una superficie limpia, plana y sin vibraciones.

- 4- Agregar la muestra sobre el pocillo de muestra "S".
PARA SUERO - PLASMA - SANGRE ENTERA
 . Colocar 40 uL con micropipeta automática*.
 . Esperar 10 a 15 segundos hasta que se absorba la muestra.
 . Agregar 3 gotas (100 uL) de Reactivo B en el pocillo de muestra "S".
 . Iniciar el cronómetro.

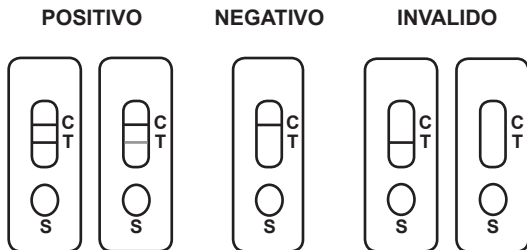
Nota: * En caso de utilizar sangre entera capilar usar el dispositivo de 40 uL descartable (sólo provisto en algunas presentaciones).

5- En cualquiera de los casos, leer los resultados entre los 25 y 35 minutos. No leer pasado los 35 minutos ya que pueden obtenerse resultados erróneos. Algunas muestras positivas reaccionan inmediatamente mientras que otras lo hacen más lentamente dentro del tiempo de lectura indicado. Debido a características particulares de algunas muestras, el color de fondo de la membrana puede quedar ligeramente rosado sin afectar la interpretación de los resultados.

CRITERIOS DE VALIDACION DE LA PRUEBA

- El cassette cuenta con una línea de color amarillo en la zona de control "C" que permite identificar la determinación **WL Check Chagas**.
- Al realizar el ensayo la línea de color amarillo debe cambiar a color rosa-rojo púrpura. Este cambio de color confirma que se ha agregado el volumen adecuado de muestra, que su migración fue apropiada y que la realización del procedimiento fue correcta.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS



Resultado Positivo (2 líneas): se observan 2 líneas de color rosa-rojo púrpura, una en la zona de prueba "T" y otra en la zona de control "C". La intensidad de color de la línea "T" dependerá de la muestra en estudio. Cualquier color rosado visible, aunque sea muy tenue debe ser interpretado como positivo. El resultado es positivo aunque las intensidades del color de las líneas "T" y "C" sean diferentes.

Resultado Negativo (1 línea): se observa solamente una línea de color rojo-rosa púrpura en la zona de control "C". No aparece línea de color en la zona de prueba "T".

Resultado Inválido: la ausencia de la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de control "C" invalida el resultado, aunque esté o no presente la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de prueba "T". Un resultado inválido general-

mente indica un error en la realización del procedimiento o un problema con la muestra. Con determinadas muestras pueden aparecer dificultades como migración incompleta, muestra muy viscosa o presencia de fibrina. En cualquier caso, revisar el procedimiento, centrifugar nuevamente la muestra y repetir el ensayo utilizando un nuevo cassette.

LIMITACIONES DEL METODO

- **WL Check Chagas** es una prueba para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi*. Cualquier resultado obtenido con esta prueba debe ser confirmado por otros métodos y co-tejado con los datos clínicos del paciente antes de realizar el diagnóstico definitivo.
- Un resultado reactivo por **WL Check Chagas** indica la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Este resultado debe ser verificado por otra técnica. Tener en cuenta el criterio recomendado por el Instituto Fátala Chabén, según el cual el inmunodiagnóstico de la infección deberá hacerse con un mínimo de 2 de los siguientes métodos: inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y ELISA, debidamente validados por el Centro Nacional de Referencia.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por *T. cruzi*. Se puede obtener un resultado falso negativo en muestras con niveles bajos de anticuerpos anti-*T. cruzi* o en estadios tempranos de la infección. Por estas razones se debe tener cuidado al interpretar un resultado negativo, especialmente en pacientes con presencia de síntomas clínicos y factores de riesgo.
- Pueden obtenerse resultados falsos positivos en las siguientes situaciones: enfermedades autoinmunes, tuberculosis, lupus eritematoso sistémico, embarazo, vacunación contra hepatitis B y otras inmunizaciones, hemodiálisis, enfermedad hepática, otras parasitosis como Leishmaniasis y otras enfermedades infecciosas diferentes a Chagas (HIV, HTLV, hepatitis C, hepatitis B, sífilis, etc).
- Pueden obtenerse resultados erróneos con muestras de suero o plasma con aspecto turbio debido a contaminación bacteriana o por haber sido sometidas a varios ciclos de congelación y descongelación.
- La utilización de muestras inactivadas por calor puede proporcionar resultados incorrectos.
- No utilizar pools de muestras o muestras diluidas.
- Ver sustancias interferentes en MUESTRA.

DESEMPEÑO

a) Sensibilidad

Sensibilidad Clínica en Paneles de Performance

En un estudio realizado sobre diferentes paneles comerciales internacionales, se obtuvieron los siguientes resultados:

- PMT 202 (Anti-*T. cruzi* Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): se detectaron 13 de las 14 muestras reactivas.
- PP 0407 (Panel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.
- PP 0508 (Panel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.
- PP 0409 (Panel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): se detectaron 16 de las 16 muestras reactivas.

Sensibilidad con Controles Internacionales

- VIOTROL® Chagas - Bio-Rad: se obtuvo resultado reactivo.
- ACCURUN® 190 Control Positivo de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* (Chagas) - Sera Care Life Sciences: se obtuvo resultado reactivo.

Sensibilidad clínica en Paneles de muestras reactivas anti-T. cruzi

En un estudio realizado sobre un panel de 326 muestras reactivas por ELISA y hemaglutinación indirecta (HAI), la sensibilidad obtenida fue de 93,87% con un $IC_{95\%} = 91,11\% - 96,62\%$.

En otro estudio realizado sobre 83 muestras reactivas de niños provenientes de región endémica para la infección por *T. cruzi*, se encontraron reactivas 78 muestras.

Un estudio realizado en un Centro de Referencia para el Diagnóstico de Chagas analizó un panel de 72 muestras reactivas obteniéndose una sensibilidad de 98,61% con un $IC_{95\%} = 92,51\% - 99,96\%$.

Otro estudio evaluó, en paralelo, 106 muestras reactivas de plasma y sangre entera obtenidas del mismo paciente. En el caso de los plasmas se detectaron 106 muestras, mientras que en el caso de la sangre entera resultaron reactivas 97 muestras.

b) Especificidad

En un estudio realizado sobre 1419 muestras de sueros, plasmas y sangres enteras provenientes de tres centros de salud diferentes, se encontró una especificidad de 97,89% con un $IC_{95\%} = 97,10\% - 98,67\%$. Para 200 de estas muestras se evaluaron en forma paralela, suero y plasma del mismo paciente. Para 17 de estas 200 muestras también se evaluó sangre entera obtenida por punción capilar. Con todos los tipos de muestras se tuvieron resultados negativos.

En otro estudio realizado sobre 313 muestras de banco de sangre, la especificidad obtenida fue de 98,08% con un $IC_{95\%} = 96,40\% - 99,76\%$.

También se estudió la posible aparición de reactividades cruzadas ensayando muestras provenientes de 257 individuos con diferentes condiciones clínicas que pueden ser causantes de reacciones inespecíficas para el ensayo

WL Check Chagas. Estas condiciones incluyen mujeres embarazadas, pacientes hemodializados, pacientes con enfermedades autoinmunes o enfermedades infecciosas diferentes a Chagas (HIV, HTLV, hepatitis C, hepatitis B, sífilis, otras). Para esta población la especificidad fue de 98,44% con un $IC_{95\%} = 96,73\% - 100,0\%$. En este muestreo se incluyeron 12 plasmas de pacientes con Leishmaniasis cutánea y 12 con Leishmaniasis mucocutánea. **WL Check Chagas** no presentó reacciones cruzadas por Leishmaniasis en ninguna de las muestras evaluadas.

c) Precisión

Se evaluó la precisión del test siguiendo el protocolo EP5-A recomendado por el CLSI (ex NCCLS). Los ensayos fueron realizados con 4 muestras positivas con diferentes niveles de reactividad y con 1 muestra negativa. Se realizaron 2 ensayos diarios evaluando cada muestra por duplicado por el transcurso de 20 días. Los resultados fueron leídos a los 25 minutos en forma visual por 3 operarios independientes. Las muestras positivas y negativas fueron identificadas correctamente en el 100% de los casos.

PRESENTACION

- 25 determinaciones (Cód. 1690011)

BIBLIOGRAFIA

- Ministerio de Salud y Acción Social, Instituto Nacional de Parasitología "Doctor Mario Fatala Chabén". Normas para el diagnóstico de la infección chagásica - Resolución ministerial 523/97, 1998.
- WHO. Control of Chagas disease. Ginebra: WHO Press, 2002.
- OMS. Reporte sobre la enfermedad de Chagas. Grupo de trabajo científico 17-20 de abril de 2005. Guhl F, Lazdins-Helds J, editores. Buenos Aires - Argentina. http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/swg_chagas.pdf.
- Centers for Disease Control and Prevention - Chagas Disease. <http://www.cdc.gov/chagas>.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. EP5-A, Vol. 19, N° 2, NCCLS.
- Interference testing in Clinical Chemistry. Approved Guideline. EP7-A, Vol. 22, N° 27, CLSI (ex NCCLS).
- User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. EP12-A, Vol. 22, N° 14, NCCLS.
- Evaluation of Stability of "in vitro" Diagnostic Reagents. Approved Guideline. EP-25A, Vol. 29, N° 20, CLSI (ex NCCLS).
- Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard, 5ª Edición. H4-A5, Vol. 24, N° 21, CLSI (ex NCCLS).



WL Check

Chagas

Para a detecção de anticorpos contra o *Trypanosoma cruzi* em soro, plasma e sangue total

SIGNIFICADO CLÍNICO

A doença de Chagas (tripanosomíase americana), é uma infecção parasitária produzida pelo *Trypanosoma cruzi*.

O diagnóstico de laboratório depende do estágio no qual é encontrada a doença.

Durante a fase aguda, o diagnóstico é efetuado diretamente mediante a comprovação dos parasitos no sangue ou por métodos imunológicos que detectem IgM.

Durante a fase crônica, podem ser utilizados os métodos imunológicos como: hemaglutinação, imunofluorescência, ensaio imunoenzimático ou Western blot. Uma vez que estas provas não reúnem individualmente as condições ótimas de sensibilidade e especificidade, é recomendável o uso de pelo menos duas provas sorológicas diferentes para confirmar a infecção pelo *T. cruzi*.

Nos últimos anos foram desenvolvidas provas rápidas imunocromatográficas baseadas em antígenos recombinantes. Pela sua simplicidade e rapidez, estas provas são uma ferramenta complementar de grande utilidade para ensaios epidemiológicos de campo bem como para o diagnóstico clínico, facilitando a detecção precoce da infecção.

WL Check Chagas é uma prova rápida baseada em uma combinação especial de antígenos recombinantes capazes de detectar a presença de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* em soro, plasma e sangue total.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

WL Check Chagas é um ensaio imunocromatográfico "in vitro" para a detecção qualitativa de anticorpos contra *Trypanosoma cruzi* em soro, plasma e sangue total. A prova consiste em um cassete plástico que contém:

- uma membrana de nitrocelulose sensibilizada, na região de prova "T", com antígenos recombinantes específicos dos estágios epimastigota e tripomastigota de *T. cruzi*.
- um parche impregnado com antígenos recombinantes específicos de *T. cruzi* conjugados a ouro coloidal.

A amostra e o tampão são acrescentados na cubeta de amostra "S" solubilizando e misturando-se com o conjugado de antígenos recombinantes. Em seguida, a mistura migra por capilaridade através da membrana de nitrocelulose. Se a amostra é reativa, os anticorpos anti-*T. cruzi* presentes, formarão um complexo com os antígenos conjugados a ouro coloidal. Este complexo, posteriormente, irá ligar aos antígenos imobilizados na região de prova "T" da membrana de nitrocelulose, formando uma linha de cor rosa-vermelho roxo. A ausência desta linha indica um resultado negativo. Como controle de procedimento, a prova inclui uma região de

controle "C" de cor amarelo que muda a cor rosa-vermelho roxo após a passagem da amostra. A ausência desta linha invalida os resultados.

MATERIAL FORNECIDO

A. Reagente A: cassete plástico composto por uma membrana de nitrocelulose sensibilizada com antígenos recombinantes específicos de *Trypanosoma cruzi* e conjugado de antígenos recombinantes.

B. Reagente B: tampão borato de sódio 50 mM, azida sódica 0,90 g/l, agente tensoativo, pH 8,0.

INSTRUÇÕES DE USO

O material fornecido é pronto para uso.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Micropipeta para medir os volumes indicados.
- Dispositivo descartável de 40 uL para coleta de sangue total capilar (só fornecido em algumas apresentações).
- Pontas descartáveis.
- Relógio alarme ou cronômetro.
- Material para coleta de amostra.
- Lanceta para coleta de amostra.
- Luvas descartáveis, guarda-pó, proteção ocular.
- Recipiente para o descarte de resíduos biológicos.
- Hipoclorito de sódio.

PRECAUÇÕES

- Ler as instruções de uso completamente antes de realizar a prova e seguir as instruções cuidadosamente.
- Não realizar a prova se a embalagem estiver danificada.
- Não utilizar os reagentes ultrapassada a data de vencimento indicada na embalagem.
- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- A prova fornece um resultado qualitativo e visual. É necessária uma boa fonte de luz para a leitura dos resultados.
- Não misturar reagentes de diferentes lotes.
- Não utilizar reagentes de outra origem.
- Não tocar a membrana de nitrocelulose com os dedos.
- Seguir as práticas de biossegurança quando utilizar as amostras e os reagentes:
 - Manipular todas as amostras de pacientes como potencialmente infecciosas.
 - Utilizar luvas, guarda-pó e proteção ocular.
 - Não pipetar com a boca.
 - Limpar e desinfetar as salpicaduras de amostras ou reagentes utilizando hipoclorito de sódio (concentração final

5%) ou outro desinfetante apropriado. Inativar o material utilizado em autoclave durante 1 hora a 121°C.

- Evitar a formação de bolhas na cubeta de amostra "S" tanto ao colocar a amostra como o Reagente B.
- Durante a prova, colocar o cassete sobre uma superfície limpa, aplanada e sem vibrações.
- Não agitar o cassete durante a prova.
- O cassete é descartável, não reutilizar. Descartar em recipientes para resíduos com risco biológico.
- O Reagente B contém azida sódica em baixas concentrações como conservador.
- Os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

O kit é estável entre 2 e 30°C até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar. Caso seja armazenado sob refrigeração, deve-se assegurar que o envelope atinja temperatura ambiente antes de se utilizar. Caso contrário será favorecida a umectação.

O cassete deve ser mantido na sua embalagem original fechada. Não abrir o envelope até que esteja pronto para uso.

AMOSTRA

Soro, plasma e sangue total coletado por punção venosa ou punção capilar

a) Coleta: coletar as amostras em forma asséptica e de modo a evitar a hemólise.

- Soro: coletar da maneira habitual. Separar o coágulo dentro de duas horas após a coleta. Pode-se utilizar soro coletado em tubos com acelerador e gel separador.
- Plasma: coletar com EDTA, citrato ou heparina.
- Sangue total (punção venosa): coletar com EDTA, citrato ou heparina.
- Sangue total (punção capilar): coletar com o dispositivo descartável de 40 uL (não fornecido em todas as apresentações). Realizar a prova de imediato. Caso seja utilizado outro dispositivo, é responsabilidade do usuário avaliar o dispositivo para coleta de sangue total capilar.

Coleta de sangue total capilar:

- 1- Coletar a amostra da ponta do dedo médio ou anular. Se necessário aquecer a mão do paciente para aumentar o fluxo de sangue. Utilizar uma toalha quente e úmida ou água quente (< 42°C).
- 2- Limpar o dedo com solução aquosa de isopropanol ao 70% v/v e deixar secar. Restos de isopropanol podem causar a hemólise da amostra.
- 3- Colocar a mão com a palma da mão para acima e sustentar o dedo do paciente firmemente.
- 4- Utilizar uma lanceta nova para cada paciente. Colocar a lanceta perpendicularmente à superfície da pele. Punçar com firmeza a ponta da falange distal do dedo.
- 5- Descartar a lanceta em um recipiente apropriado para objetos pontiagudos e com risco biológico.
- 6- Manter o dedo abaixo da altura do cotovelo e pressionar suavemente a base do dedo em intervalos regulares.

7- Absorver a primeira gota de sangue com uma gaze estéril e descartar em um recipiente apropriado. Isso garante a remoção do líquido tissular da amostra, evitando resultados errôneos.

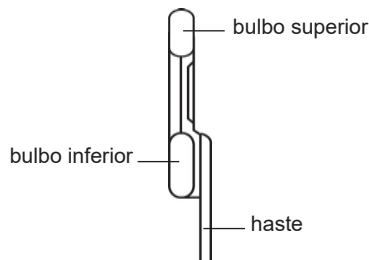
8- Coletar a amostra de sangue com o dispositivo descartável (só fornecido em algumas apresentações). Para isso:

8a- Manter o dispositivo em forma vertical e com um pequeno ângulo de inclinação em relação à superfície da pele. Pressionar o bulbo superior.

8b- Coletar a amostra de sangue para preencher a haste. Para isto, soltar o bulbo superior suavemente evitando a formação de bolhas.

8c- Agitar o dispositivo suavemente tomando cuidado para não espirrar. O excesso de amostra deve ser retido no fundo do bulbo inferior. É muito importante tomar essa precaução para evitar um excesso de sangue.

8d- Pressionar o bulbo superior e descarregar os 40 uL de amostra contidos na haste na cubeta de amostra "S".



b) Estabilidade e armazenamento:

- Soro e plasma: conservar entre 2-10°C. Caso a prova não seja realizada no prazo de 3 dias, conservar a amostra a -20°C. Não é recomendável realizar vários ciclos de congelamento e descongelamento. Isto pode gerar resultados errados. Se utilizar amostras congeladas, as mesmas devem ser homogeneizadas e centrifugadas antes de usar.
- Sangue total (punção venosa): pode ser conservado até 3 dias entre 2-10°C. Não congelar.
- Sangue total (punção capilar): utilizar de imediato. Não congelar.

c) Substâncias interferentes: não foram observadas interferências por:

- . Hemólise: até 1,1 g/dL de hemoglobina.
- . Lipemia: até um equivalente de triglicerídeos de 1500 mg/dL.
- . Bilirrubina: até 30 mg/dL.
- . Ácido ascórbico: até 50 mg/dL.

d) Transporte: caso as amostras devam ser transportadas, embalar conforme as especificações legais referentes ao transporte de material infeccioso.

PROCEDIMENTO

- 1- Os reagentes e as amostras devem estar a temperatura ambiente (18 a 30°C) antes de utilizar.
- 2- Extrair o cassete do envelope de imediato antes de utilizar.

3- Colocar o cassete em uma superfície limpa, aplanada e sem vibrações.

4- Colocar a amostra na cubeta de amostra "S".

Para soro, plasma ou sangue total:

- Colocar 40 uL com micropipeta automática.

- Esperar 10-15 segundo até que seja absorvida a amostra.

- Adicionar 3 gotas (100 uL) de Reagente B na cubeta de amostra "S".

- Iniciar o cronômetro.

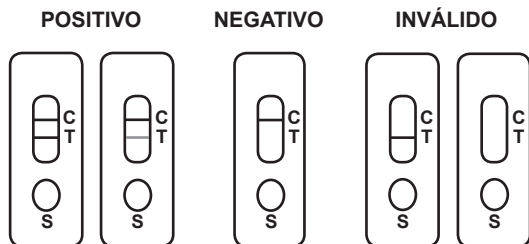
Nota: Caso seja utilizado sangue total capilar, utilizar o dispositivo descartável de 40 uL (fornecido em algumas apresentações).

5- Em ambos os casos, ler os resultados entre 25-35 minutos. Não ultrapassar os 35 minutos posto que podem ser obtidos resultados errados. Algumas amostras positivas reagem de imediato enquanto outras reagem mais lentamente dentro do tempo especificado de leitura. Devido às características de algumas amostras, a cor de fundo da membrana pode ser ligeiramente rosa, sem afetar a interpretação dos resultados.

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO DA PROVA

- O cassete tem uma linha amarela na região de controle "C" para identificar a determinação **WL Check Chagas**.
- Quando realizar a prova, a linha amarela deve mudar para rosa-vermelho roxo. A mudança de cor indica que foi adicionado o volume correto de amostra, que a sua migração foi apropriada e que o procedimento foi realizado corretamente.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



Resultado Positivo (2 linhas): observam-se 2 linhas rosa-vermelho roxo, uma na região de prova "T" e outra na região de controle "C". A intensidade de cor da linha "T" depende da amostra estudada. Todo cor rosado visível embora seja débil, deve ser interpretado como positivo. O resultado é positivo embora as intensidades de cor das linhas "T" e "C" sejam diferentes.

Resultado Negativo (1 linha): observa-se uma linha rosa-vermelho roxo na região de controle "C". Não aparece linha de cor na região de prova "T".

Resultado inválido: a ausência da linha de cor rosa-vermelho roxo na região de controle "C" invalida o resultado

embora esteja presente ou não a linha rosa-vermelho roxo na região de prova "T". Um resultado inválido, geralmente indica um erro no procedimento ou um problema com a amostra. Com algumas amostras podem aparecer dificuldades como migração incompleta, amostra muito viscosa ou presença de fibrina. Em qualquer caso, revisar o procedimento, centrifugar previamente a amostra e repetir a prova com um novo cassete.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **WL Check Chagas** é uma prova para o diagnóstico da infecção por *T. cruzi*. Qualquer resultado obtido com esta prova deve ser conferido por outros métodos e comparado com os dados clínicos do paciente antes de realizar o diagnóstico definitivo.
- Um resultado positivo por **WL Check Chagas** indica a presença de anticorpos anti-*T. cruzi*. O resultado deve ser verificado por outro método. Deve-se lembrar o critério recomendado pelo «Instituto Fátala Chaben» segundo o qual o imunodiagnóstico da infecção deve ser feito pelo menos por dois dos seguintes métodos: imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta e ELISA, devidamente validados pelo Centro Nacional de Referência.
- Um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção por *T. cruzi*. Pode ser obtido um resultado falso negativo em amostras com níveis baixos de anticorpos anti-*T. cruzi* ou em estágios iniciais da infecção. Por isso, é importante ter cuidado na interpretação de um resultado negativo especialmente em pacientes com sintomas clínicos e fatores de risco.
- Podem ser obtidos resultados falsos positivos nas seguintes situações: doenças autoimunes, tuberculose, lupus eritematoso sistêmico, gravidez, vacinação contra a hepatite B e outras imunizações, hemodiálise, doença hepática, outras parasitoses como leishmaniose e outras doenças infecciosas diferentes a Chagas (HIV, HTLV, hepatite C, hepatite B, sífilis, etc).
- Podem ser obtidos resultados errados com amostras de soro ou plasma com aspecto turvo devido a contaminação bacteriana ou por ter sido submetidas a vários ciclos de congelamento e descongelamento.
- A utilização de amostras inativadas por calor pode originar resultados errados.
- Não utilizar pooles de amostras ou amostras diluídas.
- Vide Substâncias interferentes em AMOSTRA.

DESEMPENHO

a) Sensibilidade

Sensibilidade Clínica em Painéis de Performance

Em um estudo realizado com diferentes painéis comerciais internacionais, obtiveram-se os seguintes resultados:

- PMT 202 (Anti-*T. cruzi* Performance Panel, Sera Care Life Sciences, USA - BBI Diagnostics): foram detectadas 13 das 14 amostras reativas.
- PP 0407 (Painel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): foram detectadas 16 das 16 amostras reativas.
- PP 0508 (Painel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): foram detectadas 16 das 16 amostras reativas.

- PP 0409 (Painel de Performance anti-*T. cruzi*, Q Panel, Brasil): foram detectadas 16 das 16 amostras reativas.

Sensibilidade com Controles Internacionais:

- VIROTROL® Chagas - Bio-Rad: foi obtido resultado reativo.
- ACCURUN® 190 Controle Positivo de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* (Chagas) - Sera Care Life Sciences: foi obtido resultado reativo.

*Sensibilidade clínica em Painéis de amostras reativas anti-*T. cruzi**

Em um estudo realizado em um painel de 326 amostras reativas por ELISA e hemaglutinação indireta (HAI), a sensibilidade foi 93,87% com um $IC_{95\%} = 91,11\%-96,62\%$.

Em outro estudo realizado com 83 amostras reativas de crianças provenientes de região endêmica para a infecção por *T. cruzi*, foram encontradas 78 amostras reativas.

Um estudo realizado em um Centro de Referência para o Diagnóstico de Chagas analisou um painel de 72 amostras reativas, no qual foi obtida uma sensibilidade de 98,61% com um $IC_{95\%} = 92,51\%-99,96\%$.

Outro estudo avaliou em paralelo, 106 amostras reativas de plasmas e sangue total obtidas do mesmo paciente. Em caso dos plasmas, foram detectadas 106 amostras, enquanto que para a sangue total foram reativas 97 amostras.

a) Especificidade

Em um estudo realizado em 1419 amostras de soros, plasmas e sangue total provenientes de três centros de saúde diferentes, foi obtida uma especificidade de 97,89% com um $IC_{95\%} = 97,10\%-98,67\%$. Para 200 de estas amostras, foram avaliados em paralelo, soro e plasma do mesmo paciente. Para 17 de estas 200 amostras também foi avaliado sangue total obtida por punção capilar. Com todos os tipos de amostras foram obtidos resultados negativos.

Em outro estudo realizado com 313 amostras provenientes de banco de sangue, foi obtida uma especificidade de 98,08% com um $IC_{95\%} = 96,40\%-99,76\%$.

Também foi estudada a possibilidade de obter reações cruzadas analisando amostras provenientes de 257 indivíduos com diferentes condições clínicas que podem originar reações inespecíficas para a prova **WL Check Chagas**. Estas condições incluem mulheres grávidas, pacientes hemodializados, pacientes com enfermidades autoimunes ou enfermidades infecciosas diferentes a Chagas (HIV, HTLV, hepatite C, hepatite B, sífilis, outras). Para esta população, a especificidade foi 98,44% com um $IC_{95\%} = 96,73\% - 100,0\%$. Nesta amostragem foram inclusos 12 plasmas de pacientes com leishmaniose cutânea e 12 com leishmaniose mucocutânea. **WL Check Chagas** não apresentou reações cruzadas por leishmaniose em nenhuma das amostras avaliadas.

c) Precisão

Foi avaliada a precisão da prova seguindo o protocolo EP5-A recomendado pelo CLSI (ex NCCLS). Os estudos foram realizados com 4 amostras positivas com diferentes níveis de reatividade e com 1 amostra negativa. Foram realizados 2 ensaios diários avaliando cada amostra por duplicado durante 20 dias. Os resultados foram lidos após 25 minutos

em forma visual por 3 operários independentes. As amostras positivas e negativas foram identificadas corretamente no 100% dos casos.

APRESENTAÇÃO

- 25 determinações (Cód. 1690011)

REFERÊNCIAS

- Ministerio de Salud y Acción Social, Instituto Nacional de Parasitología "Doctor Mario Fátala Chabén". Normas para el diagnóstico de la infección chagásica - Resolución ministerial 523/97, 1998.
- WHO. Control of Chagas disease. Ginebra: WHO Press, 2002.
- OMS. Reporte sobre la enfermedad de Chagas. Grupo de trabajo científico 17-20 de abril de 2005. Guhl F, Lazdins-Helds J, editores. Buenos Aires - Argentina. http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/swg_chagas.pdf.
- Centers for Disease Control and Prevention - Chagas Disease. <http://www.cdc.gov/chagas>.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. EP5-A, Vol. 19, Nº 2, NCCLS.
- Interference testing in Clinical Chemistry. Approved Guideline. EP7-A, Vol. 22, Nº 27, CLSI (ex NCCLS).
- User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. EP12-A, Vol. 22, Nº 14, NCCLS.
- Evaluation of Stability of "in vitro" Diagnostic Reagents. Approved Guideline. EP-25A, Vol. 29, Nº 20, CLSI (ex NCCLS).
- Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard, 5ª Edición. H4-A5, Vol. 24, Nº 21, CLSI (ex NCCLS).



WL Check

Chagas

For the detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi*
in serum, plasma and whole blood

SUMMARY

Chagas disease (american trypanosomiasis) is a parasitic infection caused by *Trypanosoma cruzi*. Laboratory diagnosis depends on the stage of the disease. During the acute phase, diagnosis is done by identification of parasites in the blood or through immunological methods that detect IgM antibodies. During the chronic phase, immunological methods may be used, such as hemagglutination, immunofluorescence and enzyme immunoassay or western blot. Since none of these tests individually has optimum sensitivity and specificity, it is recommended the parallel use of at least two different serological tests to confirm infection by *T. cruzi*.

In recent years, immunochromatographic rapid tests based on recombinant antigens have been developed. For their simplicity and rapidity, these tests are a useful complementary tool for both epidemiological field trials and for clinical diagnosis, thereby facilitating early detection of infection.

WL Check Chagas is a rapid test to detect antibodies against *Trypanosoma cruzi* based on a special combination of recombinant antigens capable of detecting the presence of antibodies in serum, plasma and whole blood.

PRINCIPLE

WL Check Chagas test is an "in vitro" immunochromatographic test for qualitative detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in serum, plasma and whole blood. The test consists of a plastic cassette containing:

- A nitrocellulose membrane sensitized in the «T» test zone with specific recombinant antigens from epimastigote and trypomastigote stages of *T. cruzi*.

- A patch impregnated with *T. cruzi* specific recombinant antigens for conjugated to colloidal gold.

The sample and buffer are added into the «S» sample well, solubilizing and mixing with the conjugate of recombinant antigens. Then, this mixture migrates by capillary action through the nitrocellulose membrane. If the sample is reactive, the antibodies to *T. cruzi* that are present, form a complex with the antigens conjugated to colloidal gold. This complex will then bind to the immobilized antigens in the «T» test zone of the nitrocellulose membrane, forming pink-purple red a line. The absence of this line indicates a negative result. As a control procedure, the test includes a yellow colored «C» control zone that changes to pink-purple red after the addition of the sample. The absence of this line invalidates the results.

PROVIDED MATERIAL

A. Reagent A: plastic cassette composed of a nitrocellulose membrane sensitized with *Trypanosoma cruzi* specific recombinant antigens and recombinant antigens conjugates.

B. Reagent B: 50 mM sodium phosphate buffer, 0.90 g/L sodium azide, surfactant, pH = 8.0.

INSTRUCTIONS FOR USE

The provided material is ready to use.

NON-PROVIDED REQUIRED MATERIAL

- Micropipette for measuring stated volumes.
- 40 uL disposable device for capillary whole blood sample collection (only provided in some package sizes).
- Disposable tips.
- Stopwatch or timer.
- Material for sample collection.
- Lancet for capillary whole blood collection
- Disposable gloves, lab coats, eye protection.
- Container for disposal of biological waste.
- Sodium hypochlorite.

WARNINGS

- Carefully read the instruction manual before testing, and follow the instructions.
- Avoid using the test if the package is damaged.
- Avoid using reagents beyond the expiration date stated on the packaging.
- The reagents are for "in vitro" diagnostic use.
- This test provides a qualitative and visual outcome. A good light source is required to observe the results.
- Avoid mixing reagents from different lots.
- Avoid using reagents from other sources.
- Avoid touching the nitrocellulose membrane with the fingers.
- Follow safe practices when using biological samples and reagents:
 - . Handle all patient specimens as potentially infectious.
 - . S24/25: Avoid contact with skin and eyes.
 - . S37/39: Wear suitable gloves and eye/face protection.
 - . Do not pipette by mouth.
 - . Clean and disinfect spills of specimens or reagents using sodium hypochlorite (5% final concentration) or other suitable disinfectant. To inactivate the material used autoclave for 1 hour at 121°C.
- Avoid bubble formation in «S» sample well when adding the sample and the Reagent B.
- When performing the test, place the cassette on a clean, flat surface without vibrations.
- Avoid shaking the cassette during the test.
- The cassette is disposable, not reusable. Discard into containers for biohazard risk material.
- Reagent B has low concentrations of sodium azide as preservative.

- The reagents and samples must be discarded according to current regulations.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

The kit is stable between 2 and 30°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze. If stored refrigerated, ensure that the pouch reaches room temperature before use, otherwise content moistening will be favored.

The cassette should remain in its original sealed pouch. Do not open the package until use.

SAMPLE

Serum, plasma and whole blood obtained by venipuncture or capillary puncture.

a) Collection: collect specimens aseptically and avoid hemolysis.

- Serum: obtain serum as usual. Remove serum from clot as soon as possible within two hours from collection. Serum collected in tubes with accelerator and separator gel may be used.

- Plasma: use plasma collected with EDTA, citrate or heparin.

- Whole blood (venipuncture): use blood collected with EDTA, citrate or heparin.

- Whole blood (capillary puncture): use blood collected with 40 uL disposable device (only provided in some package sizes). Perform the test immediately. If another device is used, the user is responsible for validating the device for capillary whole blood sample collection.

Capillary whole blood collection

1- Collect the sample from the tip of the middle finger or ring finger. If necessary warm the hand of the patient to increase blood flow. To that effect use a warm, moist towel or hot water (< 42°C).

2- Clean the finger with aqueous 70% v/v isopropanol solution and let dry. Isopropanol residues may cause sample hemolysis.

3- Place the hand palm up and hold the patient's finger firmly.

4- Use a new lancet for each patient. Place the lancet perpendicular to the skin surface. Firmly puncture the fingertip on the distal phalanx.

5- Discard the lancet in a suitable container for sharp objects and biohazardous material.

6- Keep the finger below the elbow level and gently press the base of the finger at regular intervals.

7- Absorb the first drop of blood with sterile gauze and place in a suitable container. This ensures the removal of tissue fluid from the sample, thus avoiding erroneous results.

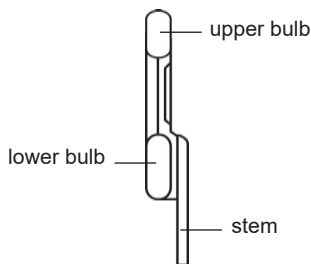
8- Collect the blood sample with the disposable device provided. To this effect:

8a- Hold the device upright with a slight angle to the skin surface. Press the upper bulb.

8b- Collect the blood sample to fill the stem, releasing the upper bulb gently avoiding bubble formation.

8c- Shake the device gently and carefully to avoid splashing. Excess sample should be retained in the bottom of the lower bulb. It is very important to take this precaution to avoid dispensing excess blood.

8d- Press the upper bulb and unload the 40 uL sample contained in the stem on the «S» sample well.



b) Stability and storage:

- Serum and Plasma: store between 2 and 10°C. If the test is not performed within 3 days, store the sample at -20°C.

Avoid performing multiple freezing and thawing cycles. This can lead to erroneous results. If using frozen samples, they must be homogenized and centrifuged before use.

- Blood (venipuncture): can be stored up to 3 days between 2 and 10°C. Do not freeze.

- Blood (capillary): use immediately. Do not freeze.

c) Interfering Substances: no interference was observed by:

- . Hemolysis: up to 1.1 g/dL hemoglobin.

- . Lipemia: up to 1500 mg/dL triglycerides.

- . Bilirubin: up to 30 mg/dL.

- . Ascorbic acid: up to 50 mg/dL.

d) Transportation: if the samples must be transported, pack according to legal specifications regarding the shipment of infectious material.

PROCEDURE

1. The reagents and samples must be at room temperature (18-30°C) before use.

2. Remove the cassette from its sealed pouch immediately before use.

3. Place the cassette on a clean, flat surface without vibrations.

4. Place the sample on the «S» sample well.

- For Serum - Plasma - Whole Blood:

- . Place 40 uL with automatic micropipette*.

- . Wait for 10-15 seconds until the sample is absorbed.

- . Add 3 drops (100 uL) of Reagent B in the «S» sample well.

- . Start the timer.

NOTE: * If capillary whole blood is used employ the 40 uL disposable device (only provided in some Package Sizes).

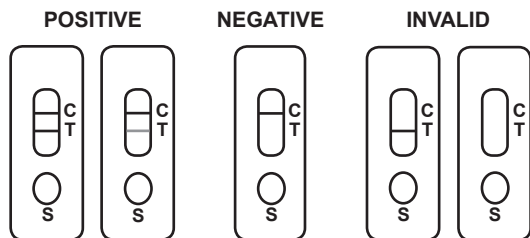
5. In either case, read the results from 25 to 35 minutes. Do not read after 35 minutes since erroneous results may be obtained. Some positive samples react immediately while others react more slowly within the specified reading time. Due to particular characteristics of some samples, the background color of the membrane may be slightly pink without affecting the interpretation of results.

ASSAY VALIDATION CRITERIA

- The cassette has a yellow line in the «C» control area that identifies the **WL Check Chagas** determination.

- When the test is performed, the yellow line should change to pink-purple red color. This color change confirms that the appropriate volume of sample was added, migration was appropriate and that the completion of the procedure was successful.

RESULT INTERPRETATION



Positive Result (2 lines): There are two pink-purple red colored lines, one in the «T» test zone and one in the «C» control area. The color intensity of the «T» line will depend on the sample under study. Any visible pink color, even very faint must be interpreted as positive. The result is positive although the intensity of the color of the «T» and «C» lines is different.

Negative Result (1 line): There is only one pink red-purple colored line in the «C» control area. No colored line appears in the «T» test zone.

Invalid Result: The absence of the pink-purple red colored line in the «C» control zone invalidates the result; whether or not the pink-purple red colored line is present in the «T» test zone. An invalid result usually indicates an error in performing the procedure or a problem with the sample. With certain samples difficulties like incomplete migration, very viscous sample or presence of fibrin may appear. In any case, review the procedure, centrifuge the sample again and repeat the test using a new cassette.

PROCEDURE LIMITATIONS

- **WL Check Chagas** is a test to the diagnosis of infection by *T. cruzi*. Any result obtained by this test should be confirmed by other methods and checked against the patient's clinical data before making a definitive diagnosis.
- A reactive result by **WL Check Chagas** indicates the presence of anti-*T. cruzi* antibodies. This result must be verified by another technique. Take into account the criteria recommended by the Fatale Chabén Institute, whereby the immunodiagnosis of the infection must be confirmed by at least two of the following methods: indirect immunofluorescence, indirect hemagglutination and ELISA, duly validated by the National Reference Center.
- A negative result does not exclude the possibility of infection with *T. cruzi*. It can be obtained a false negative result in samples with low levels of anti-*T. cruzi* or in early stages of infection. For these reasons a negative result interpretation must be followed closely, especially in patients with clinical symptoms and risk factors.
- False positive results can occur in the following situations: autoimmune diseases, tuberculosis, lupus erythematosus,

pregnancy, vaccination against hepatitis B and other immunizations, hemodialysis, liver disease, other parasitic disease such as Leishmaniasis and other infectious diseases other than Chagas (HIV, HTLV, hepatitis C, hepatitis B, syphilis, etc).

- Erroneous results may be obtained with serum or plasma with turbidity due to bacterial contamination or that have been subjected to several freezing and thawing cycles.
- The use of heat-inactivated samples may yield erroneous results.
- Avoid using pools of samples or diluted samples.
- See Known Interfering Substances under SAMPLE.

PERFORMANCE

a) Sensitivity

Clinical Sensitivity of Performance Panels

The following results were obtained in a study performed on different international commercial panels:

- PMT 202 (Anti-*T. cruzi* Performance Panel, BBI, USA): 13 out of 14 reactive samples were detected.
- PP 0407 (Chagas Performance Panel, Q Panel, Brazil): 16 out of 16 reactive samples were detected.
- PP 0508 (Anti-*T. cruzi* Performance Panel, Q Panel, Brazil): 16 out of 16 reactive samples were detected.
- PP 0409 (Chagas Performance Panel, Q Panel, Brazil): 16 out of 16 reactive samples were detected.

Analytical Sensitivity with International Controls

- VIROTROL® Chagas - Bio-Rad: Reactive result was obtained.
- ACCURUN Positive Control® 190 anti-*Trypanosoma cruzi* (Chagas) - Sera Care Life Sciences: Reactive result was obtained.

*Clinical Sensitivity in Panels of anti-*T. cruzi* reactive samples*

In a study performed on a panel of 326 samples reactive by ELISA and indirect hemagglutination (IHA), the sensitivity obtained was 93.87% with $CI_{95\%} = 91.11\% - 96.62\%$.

In another study of 83 reactive samples of children from endemic regions for *T. cruzi* infection, 78 samples were found reactive. A study carried out in a Reference Center for Diagnosis of Chagas disease tested a panel of 72 reactive samples yielding a sensitivity of 98.61% with $CI_{95\%} = 92.51\% - 99.96\%$. Another study, tested in parallel, 106 reactive plasma and whole blood samples collected from the same patient. In the case of the plasmas, 106 samples were detected, whereas in the case of the whole blood, 97 samples were reactive.

b) Specificity

In a study of 1419 samples of serum, plasma and whole blood from 3 different health centers, a specificity of 97.89% was obtained with $CI_{95\%} = 97.10\% - 98.67\%$. For 200 of these samples, serum and plasma samples from the same patient were tested in parallel and for 17 of these 200 samples, whole blood obtained by capillary puncture was also tested. With all types of samples negative results were obtained.

In another study of 313 blood bank samples, a specificity of 98.08% was obtained with $CI_{95\%} = 96.40\% - 99.76\%$.

The possible occurrence of cross-reactivity was also studied testing 257 samples from individuals with different clinical

conditions that may be causing nonspecific reactions with the **WL Check Chagas** test. These conditions include pregnant women, patients on hemodialysis, patients with autoimmune diseases or infectious diseases other than Chagas (HIV, HTLV, Hepatitis C, Hepatitis B, Syphilis, etc.). For this population, the specificity was 98.44% with $CI_{95\%} = 96.73\%-100.0\%$. For this population, the specificity was 98.44% with $CI_{95\%} = 96.73\%-100.0\%$. This sampling included 12 plasmas from patients with cutaneous leishmaniasis and 12 with mucocutaneous leishmaniasis. **WL Check Chagas** has not shown cross-reactions by Leishmaniasis in any of the samples tested.

c) Accuracy

The test accuracy was evaluated following the protocol EP5-A recommended by the CLSI (formerly NCCLS). The tests were performed with four positive samples with different reactivity levels and a negative sample. Two daily trials were performed to evaluate each sample in duplicate during 20 days. The results were visually read after 25 minutes by 3 independent operators. The positive and negative samples were correctly identified in 100% of the cases.

WIENER LAB PROVIDES

- 25 tests (Cat. N° 1690011)

REFERENCES

- Ministerio de Salud y Acción Social, Instituto Nacional de Parasitología "Doctor Mario Fatala Chabén". Normas para el diagnóstico de la infección chagásica - Resolución ministerial 523/97, 1998.
- WHO. Control of Chagas disease. Ginebra: WHO Press, 2002.
- OMS. Reporte sobre la enfermedad de Chagas. Grupo de trabajo científico 17-20 de abril de 2005. Guhl F, Lazdins-Helds J, editores. Buenos Aires - Argentina. http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/swg_chagas.pdf.
- Centers for Disease Control and Prevention - Chagas Disease. <http://www.cdc.gov/chagas>.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline. EP5-A, Vol. 19, N° 2, NCCLS.
- Interference testing in Clinical Chemistry. Approved Guideline. EP7-A, Vol. 22, N° 27, CLSI (ex NCCLS).
- User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. EP12-A, Vol. 22, N° 14, NCCLS.
- Evaluation of Stability of "in vitro" Diagnostic Reagents. Approved Guideline. EP-25A, Vol. 29, N° 20, CLSI (ex NCCLS).
- Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard, 5ª Edición. H4-A5, Vol. 24, N° 21, CLSI (ex NCCLS).

SIMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS

Símbolos que podrían encontrarse en los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Símbolos que podem ser encontrados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // Symbols that might be found on Wiener lab diagnostic reagent kits.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices



Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community



Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device



Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests



Fecha de caducidad // Data de validade // Use by



Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at)



No congelar // Não congelar // Do not freeze



Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks



Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution



Contenido // Conteúdo // Contents



Número de lote // Número de lote // Batch code



Elaborado por: // Elaborado por: // Manufactured by:



Nocivo // Nocivo // Harmful



Corrosivo // Corrosivo // Corrosive



Irritante // Irritante // Irritant



Peligroso para el medio ambiente acuático // Perigoso para o ambiente aquático // Hazardous to the aquatic environment



Peligro por aspiración // Risco de aspiração // Aspiration hazard



Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use



Calibrador // Calibrador // Calibrator



Control // Controle // Control



Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control



Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control



Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number



Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert.: 7832/12



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina