

VALORES DE REFERENCIA

En poblaciones con buen estado sanitario y carentes de procesos autoinmunes, las reacciones deben dar negativas (Muestra No Reactivas).

PRESENTACIONES

CHAGAS ELISA RECOMBINANTE

Código 141096: 96 determinaciones

BIBLIOGRAFIA

1 Camargo ME, Takeda GF: "Diagnóstico de Laboratorio", en "Doença de Chagas" Braner Z, Andreda Z Ed., Guanabara Koogan: 175-198 (1079).

2 Kirchoff LV: News FA: "Chagas Disease in Latin American Immigrants", J Amer Med Assoc 254:3058-3060 (1985).

3 Knecher LM, Lorenzo LE et al.: "Chagas Disease Screening in Blood Bank Employing Enzyme Immunoassay" Intl. J Parasitol24/2:207- 211 (1994).

4 Pastini AC, Iglesias SR, et al.: "Immunoassay with recombinant Trypanosoma cruzi Antigen Potentially Useful for Screening O1 Donated Blood and diagnosing Chagas Disease". Clin Chem. 44/10: 1893-1897 (1994).

5- Schumins GA: "Trypanosoma cruzi, the etiologic agent of Chagas Disease, status in the blood supply in endemic and non endemic countries", Transfusion 31 :97-103 (1991)

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Garantía de Calidad del Producto

GT Laboratorio elabora y comercializa productos para análisis uno IN VITRO siguiendo normas BPF (Buenas Prácticas de Fabricación), ISO 9001:2015. Los términos y condiciones de calidad son absolutos dentro de la competencia de responsabilidad, que corresponda a GT Laboratorio.

Cualquier alteración en los productos elaborados por GT Lab serán reconocidos sin cargo de ningún tipo para el usuario. Todo reclamo de calidad deberá efectuarse por escrito debidamente firmado y sellado por el profesional responsable, con el detalle del desperfecto, acompañando el producto en cuestión para su exanimación técnica por el Departamento de Control de Calidad de Gt Lab. Los reclamos deberán ser enviados a través del Distribuidor que efectuó la venta. Las reposiciones y/o respuestas técnicas serán cursadas de forma fehaciente al Profesional usuario

INFORMACION PARA CONTACTARSE

GT Laboratorio S.R.L.
Necochea 3274 (S2001QXL) Rosario – Santa Fe – Argentina
Tel / Fax: +54 (341) 481-1002 y rot.
e-mail: infoprofesional@gtlab.com.ar

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.
Autorizado por A.N.M.A.T. Certif. N° 6222
Elaborado por GT Laboratorio S.R.L.
Establecimiento Inscripto y Habilitado por ANMAT
Industria y Tecnología Argentina
Dir. Tec: Daniel Gazzola. Bioquímico
Elaborado por: GT Laboratorio S.R.L.
Industria y Tecnología Argentina

Código y Fecha de Revisión: 14190000 / ENE19

Símbolos



Consultar la metódica



Código



Denominación de lote



Para Uso en Diagnóstico in Vitro



Contenido suficiente para <n> ensayos



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Patrón



Reactivo y su número / abreviación



Temperatura Límite



Estable hasta (ultimo dia del mes)



Elaborado por



Riesgo biológico



Corrosivo



Tóxico



Inflamable



Nocivo / Irritante



Material reciclable



No exponer al sol



USO DEL PRODUCTO

Para la detección de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi por enzimo inmuno análisis (ELISA) en suero o plasma.

Método: Elisa de Antígenos Recombinantes.

SIGNIFICACIÓN CLINICA

El Trypanosoma cruzi (T. cruzi) es un parásito que es transmitido por la picadura de triatomíneos, siendo esta infección endémica en toda Latino América. Incluso en América del Norte se han detectado casos y se han registrado infecciones post transfusionales. Una vez en el organismo, el parásito viaja por vías sanguínea y linfática, infectando el músculo cardíaco, nervios, la musculatura lisa del tracto gastrointestinal con la sintomatología resultante que se conoce como Enfermedad de Chagas, responsable de unas 45.000 muertes por año.

La infección tiene un corto estadio agudo en el que hay parasitemia, evolucionando rápidamente a la cronicidad, frecuentemente asintomática pero igualmente capaz de transmitir la infección por vía trasfusional y, aunque menos frecuente, transplacentaria. En la fase crónica es más difícil detectar el parásito, siendo la serología la metodología diagnóstica de elección.

Al cabo de 10-20 años, los pacientes crónicos desarrollan cuadros graves, afectando especialmente al corazón y al aparato digestivo.

La alta prevalencia de la infección, que frecuentemente supera el 20% y es bastante mayor en algunas zonas, hace imprescindible un diagnóstico serológico tanto en dadores de sangre como en embarazadas, así como en campañas epidemiológicas y controles laborales. No obstante, la compleja estructura antigénica del T. cruzi y su similitud con otros parásitos prevalentes en las mismas zonas, plantea la necesidad de metodologías específicas para evitar un diagnóstico errado.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El desarrollo de la tecnología de los antígenos recombinantes ha permitido la obtención de estructuras antigénicas altamente específicas del T. cruzi y su producción a escala industrial: Esta tecnología permite el uso de técnicas muy sensibles, manteniendo la requerida especificidad en la determinación.

La presente técnica emplea antígenos recombinantes para detectar anticuerpos anti T. cruzi. Una muestra de suero o plasma diluida se incuba en un pocillo conteniendo tales antígenos absorbidos a sus paredes. Si existen anticuerpos en la muestra, éstos serán retenidos por los antígenos. Tras lavar el exceso de muestra, se agrega un suero anti inmunoglobulinas humanas conjugado de peroxidasa, que se une a las inmunoglobulinas capturadas en la fase anterior. Tras un nuevo lavado, la peroxidasa así ligada a la fase sólida es revelada con tetrametilbenzidina y peróxido de hidrógeno. La reacción se detiene por acidificación del medio de reacción, estabilizando el color final que se lee a 450 nm.

CHAGAS ELISA RECOMBINANTE

REACTIVOS PROVISTOS (listos para usar)

Código 141096: 96 determinaciones

1 caja conteniendo:

R1 Antígeno: 1 policubeta con 96 pocillos recubiertos con proteínas recombinantes portadoras de secuencias de las determinantes antigénicas de T. cruzi; el sobre contiene también una bolsa con desecante inerte (sílica). Listo para usar.

R2 Diluyente de Muestra: 1 frasco con 10 ml de solución 5% de albúmina bovina en solución fisiológica. Listo para usar.

R3 Conjugado: 1 frasco con 5 ml. Solución de suero anti-inmunoglobulinas humanas conjugado con peroxidasa en solución fisiológica tamponada con fosfatos 15 mmol/l a pH = 7.3. Listo para usar.

R4 Sustrato: 1 frasco con 10 ml solución de peróxido de hidrógeno no menor de 5 mmol/l y clorhidrato de tetrametil benzidina 10 mmol/l en ácido cítrico 50 mmol/l pH = 5,2 . Listo para usar.

R5 Stopper: 1 frasco con 5 ml de solución 1 mol/l de ácido sulfúrico. Listo para usar.

R6 Solución de Lavado Concentrada: 1 frasco con 100 ml de solución de cloruro de sodio 2 mmol/l y Tween 20 4% en buffer fosfato 300 mmol/l, pH= 7.

CONTROL + 1 frasco con 0.5 ml de dilución de suero reactivo para anticuerpos anti-T. cruzi. Listo para usar.

CONTROL - 1 frasco con 0.5 ml dilución de suero no reactivo para anticuerpos anti-T. cruzi. Listo para usar.

INSTRUCCIONES PARA EL USO DE LOS REACTIVOS

Los reactivos, salvo la Solución de Lavado, se proveen listos para su uso.

Solución de Lavado Diluida: se prepara por dilución de una parte de Solución de Lavado Concentrada provista con cuatro partes de agua destilada.

Conservación y estabilidad

Los reactivos provistos son estables refrigerados (2-8°C) hasta la fecha indicada en la caja.

Antígeno: debe protegerse de la humedad. Ver PRECAUCIONES y ADVERTENCIAS SOBRE EL USO DE LOS REACTIVOS.

Solución Lavadora Diluida: estable seis meses a temperatura ambiente.

Indicios de inestabilidad o deterioro

La observación de rotura en el sobre que contiene el Antígeno y la aparición de coloración celeste en el Sustrato son indicios de deterioro. En tal caso, deseche su contenido.

Precauciones y advertencias sobre el uso

El producto es exclusivamente para uso Diagnóstico "IN VITRO".

El producto no presenta condiciones especiales de manipulación y descarte ya que NO POSEE en su composición **MATERIALES POTENCIALMENTE INFECCIOSOS**, salvo los Controles Positivo y Negativo.

Estos Controles han sido preparados a partir de muestras no reactivas para antígeno de superficie de hepatitis B y para anticuerpos vinculados a los virus de HIV 1 y 2 y de la hepatitis C, ensayados por métodos de tercera generación. Antes de su uso dichas muestras han sido inactivadas 20 minutos a 121°C. No obstante, deben manipularse como cualquier muestra de pacientes, por ende, potencialmente infectiva (Ver Muestra Objeto del Diagnóstico).

El producto debe conservarse y transportarse refrigerado, a temperatura comprendida entre 2-8°C.

La policubeta con Antígeno es sensible a la humedad. El sobre debe abrirse solamente después de que haya tomado temperatura ambiente. Los pocillos no usados deben guardarse cerrado el sobre con una cinta adhesiva y manteniendo el desecante provisto en su interior.

REACTIVOS NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Agua destilada o deionizada.

MATERIAL NECESARIO PERO NO PROVISTO

-Material volumétrico para medir las cantidades indicadas en PROCEDIMIENTO.

-Reloj alarma o cronómetro.

-Baño o estufa de 37°C.

-Papel absorbente.

-Opcional mente, pipeta multicanal y/o lavador automático.

-Lector de placas o tiras ELISA

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado. El plasma debe separarse dentro de los 30 minutos de extraída la sangre.

Las muestras de pacientes deben manipularse considerándolas potencialmente infecciosas, al igual que el material descartable y los utilizados en el ensayo, que hayan estado en contacto con las mismas, incluido el papel absorbente.

Un procedimiento aconsejado para descartarlos es el siguiente: autoclavado a 121°C durante una hora y el tratamiento de los líquidos residuales con hipoclorito de sodio durante una hora a una concentración final del 5%.

Condiciones de conservación de las Muestras

El suero o plasma puede conservarse refrigerado (2-10°C) durante 24 horas o congelado a -20°C durante un mes. En caso de emplear suero o plasma congelado, descongelar rápidamente en baño de 37°C. Procesos de congelamiento y descongelamiento reiterados provocan falsos resultados.

Sustancias interferentes presentes en las Muestras

La hemólisis dificulta la medición.

PROCEDIMIENTO

Ensayo y Procesos de medicion

Lea atentamente las instrucciones antes de iniciar el ensayo. Observe lo señalado en LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO. Deje que los reactivos tomen temperatura ambiente.

1- Abra el sobre y retire únicamente los pocillos a usar, cerrándolo inmediatamente. Tenga en cuenta que debe procesarse el Control

Positivo por duplicado y Negativo por triplicado en cada corrida.

2- Proceda con siguiente esquema de pipeteo, teniendo en cuenta que las muestras deben agregarse sobre el Diluyente de Muestras, sin tocar las paredes del pocillo con la pipeta.

	Control Positivo	Control Negativo	Muestras
R2	100µl	100µl	100µl
Control Positivo	10µl	-----	-----
Control Negativo	-----	10µl	-----
Suero o Plasma	-----	-----	10µl

3- Mezcle aplicando suaves golpes laterales. Cubra los pocillos con una cinta autoadhesiva e incube 30 minutos a 37°C.

4- Vuelque el contenido de los pocillos con un movimiento seco sobre un recipiente conteniendo hipoclorito de sodio 5%, cuidando de que el líquido no salpique. Manteniendo los pocillos boca abajo, golpee un par de veces sobre papel absorbente seco para escurrir el contenido.

5- Lave 5 veces con Solución Lavadora Diluida. Cada vez, vuelque el contenido como se explicó en 4. Tras el quinto lavado, deje escurrir bien sobre el papel un par de minutos.

Cada lavado puede hacerse:

a) empleando un gotero o piseta, con el que se ha de llenar cada pocillo hasta cerca del borde, evitando que el líquido rebalse el mismo para que no se produzcan contaminaciones cruzadas

b) empleando una pipeta multicanal, desde la que se agregarán 300 µl/pocillo.

c) un lavador automático, agregando 300 µl/pocillo

6- Agregue a los pocillos:

R3	50 µl (1gota)	50 µl (1gota)	50 µl (1gota)
----	---------------	---------------	---------------

7- Mezcle aplicando suaves golpes laterales.

Cubra los pocillos con una cinta autoadhesiva e incube 30 minutos a 37°C.

8- Vuelque el contenido de los pocillos con un movimiento seco sobre un recipiente conteniendo hipoclorito de sodio 5%, cuidando de que el líquido no salpique. Manteniendo los pocillos boca abajo, golpee un par de veces sobre papel absorbente seco para escurrir el contenido.

9- Lave 5 veces con Solución Lavadora Diluida, tal como se explica más arriba. Tras el quinto lavado, deje escurrir bien sobre el papel un par de minutos.

10- Agregue a cada pocillo:

R4	100 µl (2 gotas)	100 µl (2 gotas)	100 µl (2 gotas)
----	------------------	------------------	------------------

11- Mezcle aplicando suaves golpes laterales.

Incube 30 minutos a temperatura ambiente.

12- Agregue a cada pocillo:

R5	50 µl (1gota)	50 µl (1gota)	50 µl (1gota)
----	---------------	---------------	---------------

13- Mezcle aplicando suaves golpes laterales.

14- Después de transcurridos 5 minutos, pero antes de los 30 minutos de agregado el Stopper, proceda a evaluar los resultados a simple vista o leyendo en un lector vertical a 450 nm, preferentemente en modo bicromático empleando un filtro de referencia entre 600-650 nm.

VALIDACIÓN DEL ENSAYO

Los siguientes parámetros deben verificarse para que la corrida sea válida. De lo contrario, la misma debe repetirse.

1- Los Controles Negativos deben dar lecturas inferiores a 0.200 D.O. (Lectura 450/620), visualmente, incoloro o amarillo pálido.

2- Los Controles Positivos deben dar lecturas superiores a 1.00 D.O. (Lectura 450/620), visualmente, amarillo franco.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Interpretación visual:

Resultado No Reactivo: cuando una coloración desarrollada es inferior a la producida por los Controles Negativos.

Resultado Reactivo: cuando se observa coloración amarilla franca. Si el color desarrollado es semejante al de los Controles Negativos, se debe efectuar una lectura instrumental.

Interpretación Instrumental:

Calcule el promedio de lecturas de los Controles Negativos (N) y, con él, calcule el cut-off (CO) como: (CO): $N + 0,1500$

Resultado No Reactivo: cuando la lectura es inferior al CO.

Resultado Reactivo: cuando la lectura es superior al CO.

Resultado Indeterminado: se recomienda considerar indeterminados los resultados de muestras que dan lecturas que difieren en menos del 10% del CO, procediéndose a repetir la determinación.

UNIDADES DE EXPRESION DE RESULTADO

Los resultados se expresan en forma cualitativa, como Reactivos o No Reactivos.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Resultados incorrectos pueden obtenerse si no se respetan estrictamente las indicaciones (ver PROCEDIMIENTO). Otras causas de error son:

- Muestras viejas, con partículas en suspensión o congelados y descongelados reiteradamente.
- Contaminación de las muestras.
- No respetar tiempos y/o temperaturas de reacción.
- La hemólisis puede producir errores en los resultados.

-Falsos negativos: un resultado negativo no excluye infección, ya que los anticuerpos pueden estar en una concentración inferior al límite de detección del método, el paciente puede estar cursando el llamado período de ventana, en el cual aun no se han desarrollado los anticuerpos en cantidad detectable, o puede estar inmunodeprimido, etc.

-Falsos positivos: pueden ser producidos por procesos inmunológicos inespecíficos desatados en el paciente por patologías como

tuberculosis, lepra, malaria, asma, lupus eritematoso, cancer, influenza, brucelosis, hepatitis, diabetes y enfermedades autoinmunes. Un resultado positivo no implica necesariamente Infección, la que debe confirmarse por otro método como inmunofluorescencia, xenodiagnóstico, etc. Como en toda determinación de laboratorio, el diagnóstico definitivo no puede basarse en la realización de una sola prueba, sino que es establecido por el médico tras la evaluación de todos los datos clínicos y diagnósticos disponibles.

Se aconseja procesar diariamente muestras reactivas y no reactivas para controlar la performance de ensayo.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Sensibilidad:

Una muestra de 50 sueros y plasmas reactivos para los métodos de referencia dió 50 resultados reactivos (sensibilidad del 100% para esa población).

En otra población estudiada en un laboratorio de referencia se detectaron 53 muestras sobre 54 reactivas por hemaglutinación e inmunofluorescencia (sensibilidad de 98.1 %).

Otro laboratorio de referencia halló 29 resultados reactivos sobre 29 muestras así clasificadas (sensibilidad 100%) y 7 reactivos sobre 8 muestras de baja reactividad.

Especificidad:

Una muestra de 50 sueros y plasmas no reactivos para los métodos de referencia no arrojó resultados reactivos (especificidad de 100% para esa población).

Otra población estudiada en un laboratorio de referencia arrojó una especificidad de 100% contra hemaglutinación e inmunofluorescencia (19 resultados negativos en 19 muestras no reactivas).

Otro laboratorio de referencia halló 28 resultados no reactivos sobre 28 muestras así clasificadas (especificidad 100%).

REPRODUCIBILIDAD

Los siguientes datos fueron obtenidos repitiendo tres muestras 10 veces.

Intraensayo

Muestra	Lectura promedio (D.O.450/620nm)	S.D.	C.V.%
1	0.0772	± 0.0241	31.2
2	1.0729	± 0.1169	10.9
3	1.9870	± 0.1947	9.80

Interensayo

Muestra	Lectura promedio (D.O.450/620nm)	S.D.	C.V.%
1	0.0842	± 0.0408	48.5
2	0.9457	± 0.1225	12.9
3	2.0335	± 0.2401	11.8