INTENDED USE

The Chembio CHAGAS STAT-PAK assay is a single use immunochromatographic screening test for the detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in human blood, serum or plasma. The test is used for the diagnosis of Chagas in conjunction with other criteria.

SUMMARY AND EXPLANATION

Chagas disease is caused by *T. cruzi*, a protozoan parasite of humans and a wide variety of insects and animals. It is a major public health concern in Latin America and of growing concern in the United States as the number of infected immigrants increases [1]. In Latin America, it is estimated that 120 million people, i.e. 25% of the population, inhabit endemic areas where there is risk of infection. Approximately 16 to 18 million inhabitants of rural and urban areas are thought to be infected with *T. cruzi* [2]. Prevalence of congenital infection is 10% for children born to chagasic mothers. An estimated 90% of infected individuals enter the chronic period of infection. Among them about 30% are characterized by cardiomyopathy and/or megasymphromes involving the esophagus or colon. The leading manifestation of Chagas is chronic myocarditis resulting in high morbidity and mortality [3-5].

The infection occurs via the bite of the hematophagous triatomine insect which releases the infective trypomastigotes in its excreta when feeding on mammalian host. In endemic countries where not all blood samples are controlled and detection methods are not available, infection can occur through blood transfusion. Alternatively, infection can occur through organ transplantation, ingestion of contaminated food and congenitally.

No vaccine or chemotherapy is available for the prevention of disease. However, drug therapy is available and effective when administered to young children prior to onset of the chronic stage of the disease. Recombinant antigens provide a convenient tool to improve current methods of serological diagnosis of Chagas disease. Several assays such as immunofluorescence, hemagglutination, complementation fixation, radioimmunoassay and ELISA are currently available for its diagnosis [6-8].

The Chembio CHAGAS STAT-PAK assay is an immunochromatographic screening test which employs a unique combination of highly specific recombinant antigens for the detection of antibodies to *T. cruzi*. It is rapid, simple and easy to use and can be stored at room temperature.
PRINCIPLE OF TEST
The Chembio CHAGAS STAT-PAK assay is a rapid immunochromatographic screening test for the detection of antibodies to *T. cruzi*. The method employs a unique combination of a specific antibody binding protein which is conjugated to dye particles and antigens which are bound to the membrane (solid phase). The assay shows a high degree of sensitivity and specificity.

The test sample is applied to the SAMPLE well. As the test sample flows laterally across the membrane, the specific antibody binding protein dye conjugate binds to the human immunoglobulins in the sample. If the sample contains antibodies to *T. cruzi*, the complex binds to the antigens on the solid phase in the TEST area producing a pink/purple line. In the absence of *T. cruzi* antibodies there is no line in the TEST area. The Chembio CHAGAS STAT-PAK test also provides an internal IgG antigen control. The sample continues to migrate along the membrane and produces a pink/purple line in the CONTROL zone demonstrating that the reagents are functioning properly.

MATERIALS PROVIDED
Each kit contains the following items to perform 20 tests
- 20 CHAGAS STAT-PAK test devices
- 20 Microsafe® Tubes (10μL) for fingerstick whole blood
- 1 Sample Diluent (6mL)
- 1 Product Insert

Materials Required But Not Provided
- Timer
- Pipettor (for 5μL serum or plasma samples or 10μL venous whole blood only)
- Sterile single use lancets (for fingerstick whole blood samples only)
- Sterile alcohol swabs (for whole blood samples only)

STORAGE AND STABILITY
The CHAGAS STAT-PAK assay should be stored at 8-30°C in the original sealed pouch. The diluent vial should also be stored at 8-30°C. The kit is stable until the date imprinted on the box label and/or pouch.

NOTE: Do not use expired test kits.
CAUTION: DO NOT FREEZE TEST KITS

PRECAUTIONS
1. The test is FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE only. For PROFESSIONAL USE only. Use the test only in accordance with instructions supplied with the kit.
2. Handle all specimens as recommended for potentially infectious human serum or blood specimen in the CDCNIH manual, Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed., 1999.
3. Use suitable protective clothing (gloves, lab coat, safety glasses) when handling samples. Avoid any contact between hands, eyes, nose or mouth during specimen collection and testing.
4. Do not pipette any material by mouth. Do not smoke, eat or drink in areas where specimens or kit materials are kept.
5. After the completion of the assay, autoclave all materials for 1 hour at 125°C. Alternatively, materials can be treated with 10% solution of bleach. Dispose of materials carefully in biohazard bags.
6. Do not mix reagents from different kit lots.
SPECIMEN COLLECTION
The Chembio CHAGAS STAT-PAK test is performed on whole blood, serum or plasma.

Whole Blood: Collect whole blood into tubes containing heparin, EDTA or sodium citrate. For fingerstick blood, prick the finger and wipe away the first drop. Collect the second drop with a disposable 10μL Microsafe® Tube (provided). Do not squeeze the finger too hard. Follow test procedure instructions.

Serum: Serum is used from whole blood collected aseptically by venipuncture into a clean tube without anticoagulant. Allow the blood to clot at room temperature. Centrifuge the blood at 2000 rpm for 10 minutes at room temperature. Remove the serum from the clot as soon as possible to avoid hemolysis.

Plasma: Collect whole blood with anticoagulants (heparin, EDTA or sodium citrate), centrifuge at 2000 rpm for 10 minutes and isolate the plasma supernatant.

Patient samples perform best when tested immediately after collection. Specimens should be refrigerated immediately following collection at 2-8°C and can be used up to 3 days. If testing within 3 days is not possible, the specimens should be frozen (-20°C or colder).

NOTE: If specimens are to be shipped they should be packed in compliance with regulations covering the transportation of etiologic agents.

CONFIRMATION OF TEST PERFORMANCE
The Chembio CHAGAS STAT-PAK assay is the only rapid assay that provides visual confirmation of control line reagents BEFORE running the assay. When viewing the test device, you will note a YELLOW band in the CONTROL area of the reaction card. This colored complex indicates that the reagents necessary for the test to function properly ARE indeed present and active. After addition of the sample, this YELLOW band migrates along the membrane at the leading edge of the dye conjugate and is removed from the test device completely.

When the test is complete, you will observe the familiar pink/purple line in the CONTROL area of the test device for negative as well as positive samples (it serves as an internal IgG control and gives confirmation of proper test performance). A pink/purple line in both the TEST and CONTROL areas indicate a positive result.

TEST PROCEDURE
1. If the test sample is refrigerated, remove it from the refrigerator and allow it to come to room temperature prior to testing.
2. Remove the required number of CHAGAS STAT-PAK test devices from their pouches by tearing along the notched area and place the device on a flat surface area.
3. Label the test device with patient name or identification number.
4. For fingerstick whole blood, prick the finger and wipe away the first drop. Collect the second drop with a Microsafe® Tube holding it in a horizontal position as shown. Touch the tip of the tube to the blood sample. Capillary action will draw the sample to the black fill line and stop. Never squeeze the bulb of the tube while sampling.
5. Add the specimen to the center of the SAMPLE well.

To push the sample out of the Microsafe® Tube, line up the tip of the tube with the SAMPLE well and squeeze the bulb.

**ONLY IF THE SAMPLE DOES NOT COME OUT OF THE TUBE**, hold the tube vertically and slide a finger over the vent hole near the black mark. Then line up the tip with the SAMPLE well and squeeze the bulb.

If testing a sample other than fingerstick blood, use an accurate pipette and add the required amount of sample to the sample well.

- a) Serum or plasma - 5μL
- b) Whole blood - 10μL

6. Invert the diluent bottle and hold it vertically (not at an angle) over the sample well. Add the diluent slowly dropwise, 6 drops (~240μL) into the SAMPLE well.

7. Read results within 15 minutes after the addition of diluent. Allow a full 15 minutes to confirm a negative result. **Do not read any results after 15 minutes.**

**NOTE:** The sample volume is critical, use an accurate pipette. Adding more than 5μL of serum or plasma or 10μL of blood decreases sensitivity.

**QUALITY CONTROL**

A pink/purple line should always appear in the CONTROL area if the test has been performed correctly and the device is working properly. It serves as an internal IgG procedural control. A clear background in the TEST area is an internal negative procedural control.

Good Laboratory Practice (GLP) recommends the use of control materials along with the
test samples to ensure proper performance of the test kit. Positive and negative serum or plasma based commercial controls should be used for this purpose. Use controls as per the TEST PROCEDURE instructions of this insert.

INTERPRETATION OF RESULTS

Negative Result

One pink/purple line in the CONTROL area with no visible line in the TEST area indicates a negative result. A negative result at 15 minutes indicates that there are no detectable antibodies to Chagas in the sample. A negative result does not preclude the possibility of Chagas infection.

Positive Result

Two pink/purple lines - one in the TEST area and one in the CONTROL area indicate a positive result. The line in the TEST area may look different from the line in the CONTROL area.

NOTE: Intensities of the TEST and CONTROL lines may vary. If any visible line appears in the TEST area and in the CONTROL area, the result is positive.

Invalid Results

A pink/purple line should always appear in the CONTROL area regardless if the TEST line appears or not. If there is no distinct pink/purple line visible in the CONTROL area, the test is invalid and should be repeated using a new device.

An invalid result indicates a problem with running the test, either related to the specimen or to the device. If you are unable to obtain a valid result upon repeat testing, contact Chembio Diagnostic Systems at +1-631-924-1135 or info@chembio.com.
EXPECTED RESULTS
This is a qualitative test for the detection of antibodies to *T. cruzi* in blood, serum or plasma. The presence of antibodies suggest *T. cruzi* infection and the expected result will be positive. In the absence of infection, a negative result will be observed. This is based on findings with CHAGAS STAT-PAK testing.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE
The CHAGAS STAT-PAK procedure and the interpretation of the results must be followed closely. The assay is designed for detecting antibodies to *T. cruzi* in human serum, plasma or whole blood. Any result from the testing of other body fluids or of pooled serum, or plasma should not be used.

For positive samples it is recommended that a more specific reference test be performed, along with a clinical evaluation of the patient’s situation before a final diagnosis is made. Rapid testing alone should not be used to diagnose *T. cruzi* infection even if *T. cruzi* antibodies are present. A negative result at any time does not preclude the possibility of infection with *T. cruzi*. Additional follow-up testing using other clinically available methods is required if the Chembio CHAGAS STAT-PAK test result is negative and clinical symptoms persist or do not fit other clinical data available.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Highly specific antibody binding protein and antigens are used for the CHAGAS STAT-PAK assay. The sensitivity of the CHAGAS STAT-PAK test was compared to a leading commercial test for Chagas and the detection limit found to be substantially equivalent.

Sensitivity and Specificity
Clinical trial studies were performed to evaluate Chembio’s CHAGAS STAT-PAK assay. In one study (9) a panel of 393 coded serum samples from patients from endemic areas of Brazil were tested. 200 of these were from well-defined chagasic patients and an additional 150 samples were selected from healthy individuals. The status of these 350 samples was confirmed by conventional serology (indirect immunofluorescence assay (IIA), indirect hemagglutination assay (IHA), and ELISA. The following results were obtained:

<table>
<thead>
<tr>
<th></th>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>Positive</td>
</tr>
<tr>
<td>IIA /</td>
<td>197</td>
</tr>
<tr>
<td>IHA /</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>ELISA</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

These results show a 98.5% sensitivity and 96.0% specificity. An additional 43 serum samples from individuals who were not infected with *T. cruzi* but were infected with other diseases were also tested. These samples contained: visceral leishmaniasis (9), mucocutaneous leishmaniasis (10), AIDS (3), hepatitis B (11) and autoimmune diseases (10). Four sera of these 43 (2 with visceral leishmaniasis and 2 with hepatitis B) tested positive with the Chembio CHAGAS STAT-PAK assay resulting in an overall specificity of 94.8% for the 193 non-chagasic sera in this study. It is interesting to note that of the 19 samples that were not infected with *T. cruzi* but with leishmaniasis, 10 produced positive results with the conventional serology tests (IIA, IHA, ELISA).

In another study (9), comprising 352 serum samples from 4 different Latin American countries, the Chembio CHAGAS STAT-PAK assay exhibited an overall sensitivity of
100% and specificity of 98.6% as compared to conventional serology (IIA, IHA, ELISA). These results are detailed below.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Country</th>
<th>Number of Individuals</th>
<th>Chagasic STAT-PAK Positive/Total</th>
<th>Non-Chagasic STAT-PAK Positive/Total</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Honduras</td>
<td>204</td>
<td>157/157</td>
<td>0/47</td>
</tr>
<tr>
<td>Venezuela</td>
<td>45</td>
<td>40/40</td>
<td>0/5</td>
</tr>
<tr>
<td>Bolivia</td>
<td>21</td>
<td>10/10</td>
<td>0/11</td>
</tr>
<tr>
<td>Argentina</td>
<td>82</td>
<td>72/72</td>
<td>1/10</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>352</td>
<td>279/279</td>
<td>1/73</td>
</tr>
</tbody>
</table>

A study was also performed using a total of 5998 sera from Honduras, El Salvador, and Nicaragua to compare the performance of the Chembio CHAGAS STAT-PAK assay with that of a commercial ELISA test (10).

<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th>Positive</th>
<th>Negative</th>
<th>Total</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>ELISA Positive</td>
<td>1328</td>
<td>3</td>
<td>1331</td>
</tr>
<tr>
<td>ELISA Negative</td>
<td>0</td>
<td>4667</td>
<td>4667</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>1328</td>
<td>4670</td>
<td>5998</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Overall sensitivity and specificity as compared to the ELISA test were 99.8% and 100% respectively.

Of the 5998 sera, 3400 were blood donor sera and were found to have a positive rate of 4.6% with both the ELISA and CHAGAS STAT-PAK assays. For these 3400 sera, there was 100% agreement between ELISA and CHAGAS STAT-PAK assay.

**Precision**

**Intra-Assay**
Within run precision was determined by using 10 replicates of three different specimens containing different concentrations of antibodies. The negative and positive values were correctly identified 100 percent of the time.

**Inter-Assay**
Between run precision was determined by using the same three specimens in 10 different replicates with three different lots of test devices over a six month period. Again positive and negative results were observed 100 percent of the time.

**Interference and Cross Reactivity**
Test performance was evaluated using various sera containing different antibody titers of Chagas and samples containing various interfering substances. No interference was observed from bilirubin, hemoglobin and triglycerides with Chembio CHAGAS STAT-PAK assay. Rheumatoid Factor levels up to 80 IU/mL do not interfere with the test, levels higher than this may result in false positive results. No cross reactivity was observed from Leishmaniasis infected sera with Chembio CHAGAS STAT-PAK assay.
REFERENCES

FOR MORE INFORMATION, CONTACT
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

ORDERING INFORMATION
REF CG101 CHAGAS STAT-PAK®
EC REP
EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
The Netherlands
INDICATION
Le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK est un test immunochromatographique à usage unique qui permet de dépister les anticorps dirigés contre *Trypanosoma cruzi* dans le sang, le sérum ou le plasma humain. Ce test s’utilise pour le diagnostic de la trypanosomiase en conjonction avec d’autres critères.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION
La trypanosomiase est causée par *T. cruzi*, un parasite protozoaire de l’homme et de nombreux insectes et animaux. Il s’agit d’un problème majeur de santé publique en Amérique latine, qui devient de plus en plus inquiétant aux États-Unis dans la mesure où le nombre dimmigrants infectés ne cesse d’augmenter [1]. En Amérique latine, on estime à 120 millions (25 % de la population) le nombre de personnes qui habitent des zones endémiques présentant un risque d’infection. On estime à 16 à 18 millions environ le nombre d’habitants de zones rurales et urbaines infectés par *T. cruzi* [2]. La prévalence d’infection héréditaire est de 10 % chez les enfants nés de mères atteintes de la maladie. On estime à 90 % le taux de personnes infectées qui entrent dans la période chronique d’infection. Parmi celles-ci, 30 % présentent une cardiomyopathie et/ou des mégasyndromes impliquant l’oesophage ou le côlon. La principale manifestation de la trypanosomiase est une myocardite chronique donnant lieu à un taux élevé de morbidité et de mortalité [3-5].

L’infection se produit suite à la piqûre d’un insecte hématophage - le triatomine - qui libère des trypomastigotes infectieuses dans ses excrément pendant qu’il s’alimente sur l’hôte mammifère. Dans les pays endémiques où tous les échantillons sanguins ne sont pas contrôlés et des méthodes de détection ne sont pas disponibles, l’infection peut se produire lors d’une transfusion sanguine. Ou bien, l’infection peut se faire par le biais d’une greffe d’organe, l’ingestion d’aliments contaminés ou par voie héréditaire.

Il n’existe aucun vaccin et aucune chimiothérapie pour la prévention de la maladie. Toutefois, un traitement médicamenteux est disponible et efficace lorsqu’il est administré à de jeunes enfants avant l’apparition du stade chronique de la maladie. Les antigènes recombinants sont un outil pratique qui améliore les méthodes actuelles de diagnostic sérologique de la trypanosomiase. Plusieurs dosages - immunofluorescence, hémagglutination, complémentation, fixation, dosage radio-immunologique et ELISA - sont actuellement disponibles pour son diagnostic [6-8].

Le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK est un test de dépistage immunochromatographique qui emploie une combinaison unique d’antigènes.
recombinants hautement spécifiques pour la détection d'anticorps dirigés contre *T. cruzi*. Il est rapide, simple et facile à utiliser et il se conserve à température ambiante.

**PRINCIPE DU TEST**

Le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK est un test de dépistage immunochromatographique rapide utilisé pour la détection des anticorps dirigés contre *T. cruzi*. La méthode emploie une combinaison unique de protéine se liant à un anticorps spécifique conjuguée à des particules de colorant et des antigènes qui sont liés à la membrane (phase solide). Le dosage indique un haut degré de sensibilité et de spécificité.

L’échantillon de test est appliqué au puits SAMPLE. À mesure que l’échantillon s’écoule latéralement à travers la membrane, le conjugué protéine de liaison à l’anticorps spécifique/colorant se lie aux immunoglobulines humaines présentes dans l’échantillon. Si l’échantillon contient des anticorps dirigés contre *T. cruzi*, le complexe se lie aux antigènes sur la phase solide dans la zone TEST, produisant un trait rose/violet. En l’absence d’anticorps dirigés contre *T. cruzi*, aucun trait n’apparaît dans la zone TEST. Le test Chembio CHAGAS STAT-PAK propose également un contrôle interne (antigène IgG). L’échantillon continue à migrer le long de la membrane et produit un trait rose/violet dans la zone CONTROL, indiquant que les réactifs fonctionnent correctement.

**MATÉRIEL FOURNI**

Chaque trousse contient assez de matériel pour effectuer 20 tests :
- 20 dispositifs de test CHAGAS STAT-PAK
- 20 tubes Microsafe® (10μL) pour sang total prélevé par ponction digitale
- 1 diluant d’échantillon (6mL)
- 1 notice d’utilisation du produit

Matériel requis mais non fourni
- Minuterie
- Pipette (pour 5μL d’échantillons de sérum ou de plasma ou 10μL de sang total veineux seulement)
- Lancettes stériles à usage unique (pour prélèvements de sang total par ponction digitale seulement)
- Coton-tiges stériles imbibés d’alcool (pour prélèvements de sang total seulement)

**CONSERVATION ET STABILITÉ**

Le dosage CHAGAS STAT-PAK doit être conservé entre 8 et 30 °C dans son sachet scellé d’origine. Le flacon de diluant doit être également stocké entre 8 et 30 °C. La trousse est stable jusqu’à la date imprimée sur l’étiquette de la boîte et/ou le sachet.

**REMARQUE:** Ne pas utiliser de troupes de test dont la date de péremption a expiré.

**ATTENTION:** NE PAS CONGÉLER LES TROUSSES DE TESTS.

**PRÉCAUTIONS**

1. Ce test est réservé à un USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO Réservé à une UTILISATION PROFESSIONNELLE. Utiliser le test uniquement conformément aux instructions fournies avec la trousse.
3. Porter des vêtements de protection adaptés (gants, blouse de chimiste, lunettes de sécurité) lors de la manipulation des échantillons. Éviter tout contact entre les mains, les yeux, le nez ou la bouche durant le prélèvement et le dosage des échantillons.
4. Ne pas pipeter à la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire là où sont stockés les échantillons ou le matériel de la trousse.
5. Une fois le dosage terminé, passer tout le matériel à l’autoclave pendant 1 heure à 125 °C. Ou bien, le matériel peut être traité avec de l’eau de Javel à 10 %. Jeter le matériel avec précaution dans des poches réservées aux matières biologiques dangereuses.
6. Ne pas mélanger les réactifs provenant de différents lots de trousse.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS
Le test Chembio CHAGAS STAT-PAK est réalisé sur des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma.

Sang total: prélever le sang total dans des tubes contenant de l’EDTA, de l’héparine ou du citrate de sodium. Pour une ponction digitale, piquer le doigt et essuyer la première goutte de sang. Collecter la seconde goutte avec un tube de 10μL Microsafe® jetable (fourni). **Ne pas trop presser le doigt.** Suivre les instructions de la procédure de test.

Sérum: le sérum est tiré de sang total prélevé de manière aseptique par ponction veineuse dans un tube propre sans anticoagulant. Laisser le sang coaguler à température ambiante. Centrifuger le sang à 2000 tr/min pendant 10 minutes à température ambiante. Retirer le sérum du caillot le plus tôt possible pour éviter l’hémolyse.

Plasma: prélever du sang total avec un anticoagulant (EDTA, héparine ou citrate de sodium), centrifuger à 2000 tr/min pendant 10 minutes et isoler le surnageant (plasma).

Les échantillons patient donnent les meilleurs résultats lorsqu’ils sont dosés juste après le prélèvement. Les échantillons doivent être refrigérés entre 2 et 8 °C juste après leur prélèvement et peuvent être utilisés pendant 3 jours maximum. Si un test est impossible dans les 3 jours, congeler les échantillons à -20 °C maximum.

REMARQUE: Si les échantillons doivent être expédiés, les emballer conformément aux réglementations relatives au transport d’agents étiologiques.

CONFIRMATION D’EXÉCUTION DU TEST
Le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK est le seul dosage rapide capable de fournir une confirmation visuelle des réactifs du trait de contrôle AVANT exécution. Une bande JAUNE se trouve dans la zone CONTROL de la carte de réaction. Ce complexe de couleur indique que les réactifs nécessaires pour le fonctionnement correct du test sont bel et bien présents et actifs. Après l’ajout de l’échantillon, cette bande JAUNE migre le long de la membrane au bord avant du conjugué de colorant et elle disparaît complètement du dispositif de test.

Une fois le test terminé, le trait rose/violet familier apparaît dans la zone CONTROL du dispositif de test pour les échantillons négatifs et positifs (il sert de contrôle IgG interne et confirme le bon fonctionnement du test). Le trait rose/violet dans les zones TEST et CONTROL indique un résultat positif.

PROCÉDURE DE TEST
1. Si l’échantillon à tester est réfrigéré, le sortir du réfrigérateur et le laisser s’adapter à la température ambiante avant le test.
2. Retirer le nombre requis de dispositifs de test CHAGAS STAT-PAK des sachets en déchirant le long de la zone crantée et les placer sur une surface plate.
3. Étiqueter le dispositif de test en ajoutant le nom du patient ou son numéro d’identification.
4. Pour un prélèvement de sang total par ponction digitale, piquer le doigt et essuyer la première goutte de sang. Collecter la seconde goutte dans un tube Microsafe® maintenu
à l’horizontale, comme illustré. Mettre l’extrémité du tube en contact avec l’échantillon sanguin. L’action capillaire aspirera l’échantillon jusqu’au trait noir et s’arrêtera.

Ne jamais presser la poire du tube durant le prélèvement.

5. Ajouter l’échantillon au centre du puits SAMPLE.

Pour expulser l’échantillon du tube Microsafe®, aligner l’extrémité du tube sur le puits SAMPLE et presser la poire.

SEULEMENT SI L’ÉCHANTILLON NE SORT PAS DU TUBE, tenir le tube à la verticale et glisser un doigt sur le trou d’aération, près du repère noir. Ensuite, aligner l’extrémité sur le puits SAMPLE et presser la poire.

S’il s’agit de tester un autre échantillon qu’un prélèvement sanguin par ponction digitale, utiliser une pipette précise et ajouter le volume requis d’échantillon au puits.
   a) Sérum ou plasma - 5μL
   b) Sang total - 10μL

6. Retourner le flacon de diluant et le tenir à la verticale (non incliné) au-dessus du puits contenant l’échantillon. Ajouter progressivement le diluant, en plaçant 6 gouttes (~240μL) dans le puits SAMPLE.

7. Lire les résultats dans les 15 minutes qui suivent après l’ajout de diluant. Compter 15 minutes complètes pour confirmer un résultat négatif. Ne pas lire les résultats au-delà de 15 minutes.

REMARQUE: Comme le volume de l’échantillon est critique, utiliser une pipette précise. L’ajout de plus de 5μL de sérum ou de plasma ou de 10μL de sang diminue la sensibilité.
**CONTRÔLE QUALITÉ**

Un trait rose/violet doit toujours apparaître dans la zone CONTROL si le test a été correctement réalisé et si le dispositif fonctionne bien. Il s’agit d’un contrôle de procédure IgG interne. Un fond clair dans la zone TEST est un contrôle de procédure négatif interne.

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l’utilisation de matériel de contrôle en même temps que les échantillons à doser pour garantir la performance adéquate de la trousse de tests. Des contrôles commerciaux à base de plasma et de sérum positif et négatif doivent être utilisés à cette fin. Utiliser les contrôles conformément aux instructions PROCÉDURE DE TEST de cette notice d’utilisation.

**INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

**Résultat négatif**

Un trait rose/violet dans la zone CONTROL, sans trait dans la zone TEST, indique un résultat négatif. Un résultat négatif à 15 minutes indique l’absence d’anticorps détectables dirigés contre la trypanosomiase dans l’échantillon. Un résultat négatif n’exclut pas la possibilité d’infection par la trypanosomiase.

**Résultat positif**

Deux traits roses/violets - un dans la zone TEST et un dans la zone CONTROL - indiquent un résultat positif. Le trait dans la zone TEST pourra avoir l’air différent du trait dans la zone de CONTROL.

**REMARQUE**: L’intensité de couleur des traits des zones TEST et CONTROL peut varier. Si un trait visible apparaît dans la zone TEST et dans la zone CONTROL, le résultat est réactif.

**Résultats non valides**

Un trait rose/violet doit toujours apparaître dans la zone CONTROL, qu’un trait apparaissa ou non dans la zone TEST. En l’absence de trait rose/violet distinct visible dans la zone CONTROL, le test n’est pas valide et doit être répété avec un nouveau dispositif.
Un résultat non valide indique un problème d'exécution du test, lié à l'échantillon ou au dispositif. Si un résultat valide ne peut pas être obtenu une fois le test répété, contacter Chembio Diagnostic Systems au +1-631-924-1135 ou à info@chembio.com.

RÉSULTATS ESCOMPTÉS
Il s'agit d'un test qualitatif de dépistage d'anticorps dirigés contre le T. cruzi dans le sang total, le sérum ou le plasma. La présence d'anticorps suggère une infection par T. cruzi et le résultat escompté sera positif. En l'absence d'infection, un résultat négatif est observé. Ceci est basé sur les constatations faites avec le test CHAGAS STAT-PAK.

LIMITES DE LA PROCÉDURE
La procédure CHAGAS STAT-PAK et l’interprétation des résultats doivent être suivies de près. Le dosage a été conçu pour la détection des anticorps dirigés contre T. cruzi dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Les résultats de tests effectués à partir d’autres fluides corporels ou d’un mélange de sérum ou de plasma ne devront pas être utilisés.

Pour des résultats positifs, il est recommandé d’effectuer un test de référence plus spécifique, ainsi qu’une évaluation clinique de l’état du patient avant la pose d’un diagnostic final. Les tests rapides ne peuvent pas servir à eux seuls à diagnostiquer une infection par T. cruzi, même en présence d’anticorps dirigés contre T. cruzi. Un résultat négatif n’exclut pas la possibilité d’infection par T. cruzi. Des tests de suivi supplémentaires par d’autres méthodes cliniquement disponibles sont requis si le résultat de test Chembio CHAGAS STAT-PAK est négatif et que les symptômes cliniques persistent ou ne cadrent pas avec les autres données cliniques disponibles.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE
Une protéine de liaison à l’anticorps huatement spécifique et des antigènes sont utilisés pour le dosage CHAGAS STAT-PAK. La sensibilité du test CHAGAS STAT-PAK a été comparée à un test commercial connu de dépistage de la trypanosomiase et la limite de détection constatée s’est avérée substantiellement équivalente.

Sensibilité et spécificité
Des essais cliniques ont été effectués pour évaluer le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK. Lors d’un essai (9), une plaque de 393 échantillons de sérum codés prélevés sur des patients issus de zones endémiques du Brésil a été testée. Parmi ces échantillons, 200 provenaient de patients atteints de trypanosomiase bien définis et 150 échantillons supplémentaires ont été sélectionnés parmi des personnes en bonne santé. L’état de ces 350 échantillons a été confirmé par sérologie conventionnelle (test d’immunofluorescence indirecte (IIA), test d’hémagglutination passive (IHA) et ELISA. Les résultats suivants ont été obtenus :

<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th></th>
<th></th>
<th>Total</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>Positifs</td>
<td>Négatifs</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>IIA / IHA / ELISA</td>
<td>197</td>
<td>3</td>
<td>200</td>
</tr>
<tr>
<td>Négatifs</td>
<td>6</td>
<td>144</td>
<td>150</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>203</td>
<td>147</td>
<td>350</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Ces résultats montrent une sensibilité de 98,5 % et une spécificité de 96 %. Un supplément de 43 échantillons de sérum prélevés sur des personnes non infectées par T. cruzi, mais infectées par d’autres maladies, a également été testé. Ces échantillons contenaient : leishmaniose viscérale (9), leishmaniose cutanéomuqueuse (10), SIDA (3), hépatite B (11) et maladies auto-immunes (10). Sur ces 43 échantillons de sérum, 4 (2 avec leishmaniose viscérale et 2 avec hépatite B) ont testé positifs avec le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK, ce qui a donné lieu à une spécificité globale de 94,8 %.
pour les 193 échantillons de sérum non infectés par la trypanosomiase dans le cadre de cette étude. Il est intéressant de noter que sur les 19 échantillons non infectés par *T. cruzi*, mais infectés par la leishmaniose, 10 ont produit des résultats positifs avec les tests sérologiques conventionnels (IIA, IHA, ELISA).

Dans une autre étude (9), qui comprenait 352 échantillons de sérum issus de 4 pays d’Amérique latine différents, le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK a présenté une sensibilité globale de 100 % et une spécificité de 98,6 % par rapport à la sérologie conventionnelle (IIA, IHA, ELISA). Ces résultats sont détaillés ci-dessous.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Pays</th>
<th>Nombre de personnes</th>
<th>Trypanosomiase</th>
<th>Sans trypanosomiase</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>Positifs STAT-PAK/total</td>
<td>Positifs STAT-PAK/total</td>
</tr>
<tr>
<td>Honduras</td>
<td>204</td>
<td>157/157</td>
<td>0/47</td>
</tr>
<tr>
<td>Venezuela</td>
<td>45</td>
<td>40/40</td>
<td>0/5</td>
</tr>
<tr>
<td>Bolivia</td>
<td>21</td>
<td>10/10</td>
<td>0/11</td>
</tr>
<tr>
<td>Argentina</td>
<td>82</td>
<td>72/72</td>
<td>1/10</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>352</td>
<td>279/279</td>
<td>1/73</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Une étude a également été effectuée sur un total de 5 998 échantillons de sérum du Honduras, du Salvador et du Nicaragua pour comparer le niveau de performance du dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK à celui d’un test ELISA commercial (10).

<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th>ELISA</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Positifs</td>
<td>1328</td>
</tr>
<tr>
<td>Négatifs</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>1328</td>
</tr>
</tbody>
</table>

La sensibilité et la spécificité globales par rapport au test ELISA étaient respectivement de 99,8 % et 100 %.

Sur les 5 998 échantillons de sérum, 3 400 étaient des échantillons de donneur de sang et ils ont montré un taux positif de 4,6 % à la fois avec les dosages ELISA et CHAGAS STAT-PAK. Pour ces 3 400 échantillons de sérum, il y avait une concordance de 100 % entre les dosages ELISA et CHAGAS STAT-PAK.

**Précision**

**Précision intra-série**

La précision intra-série a été déterminée en reproduisant 10 fois le dosage de trois échantillons contenant différentes concentrations d’anticorps. Les résultats négatifs et positifs ont été correctement identifiés dans 100 % des cas.

**Précision inter-séries**

La précision inter-séries a été déterminée en utilisant les trois mêmes échantillons à 10 reprises et trois lots différents de dispositifs de test sur une période de six mois. Là encore, les résultats négatifs et positifs ont été correctement identifiés dans 100 % des cas.

**Interférences et réactivité croisée**

Le niveau de performance du test a été évalué avec différents échantillons de sérum contenant différents titrages d’anticorps de la trypanosomiase et des échantillons...
contenant diverses substances interférantes. Aucune interférence de la bilirubine, de l’hémoglobine et des triglycérides n’a été observée avec le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK. Le facteur rhumatoïde jusqu’à 80 IU/mL n’interfère pas avec le test ; au-delà de cette concentration, des faux positifs sont possibles. Aucune réactivité croisée des échantillons de sérum infectés par la leishmaniose n’a été observée avec le dosage Chembio CHAGAS STAT-PAK.

RÉFÉRENCES
VORGESEHENER GEBRAUCH

Der Chembio CHAGAS STAT-PAK Assay ist ein immunochromatographischer Einweg-Diagnosetest zur Erkennung von Antikörpern gegen *Trypanosoma cruzi* in menschlichem Blut, Serum oder Plasma. Der Test wird gemeinsam mit anderen Kriterien zur Diagnose von Chagas eingesetzt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG


Der Chembio CHAGAS STAT-PAK Assay ist ein immunochromatographischer Diagnostest, der eine einzigartige Kombination hoch spezialisierter Rekombinant-Antigene für die Erkennung von Antikörpern gegen T. cruzi enthält. Er ist rasch und einfach durchzuführen, einfach zu verarbeiten und kann bei Raumtemperatur gelagert werden.

TESTPRINZIPIEN

Die Testprobe wird auf den PROBEN-Behälter aufgetragen. Wenn die Testprobe seitlich über die Membran fließt, verbindet sich das spezielle Antikörper-bindende Protein-Farbstoffkonjugat mit den menschlichen Immunoglobulinen in der Probe. Falls die Probe Antikörper gegen T. cruzi enthält, verbindet sich der Komplex mit den Antigenen in der festen Phase im TEST-Bereich und erzeugt eine rosa/violette Linie. Bei Absenz von T. cruzi Antikörpern entsteht keine Linie im TESTBereich. Der Chembio CHAGAS STAT-PAK Test bietet auch eine interne IgG-Antigenkontrolle. Die Probe migriert weiter entlang der Membran und erzeugt eine rosa/violette Linie in der KONTROLLZone, was demonstriert, dass die Reagenzien korrekt funktionieren.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN
Jeder Satz enthält die folgenden Teile zur Durchführung von 20 Tests
- 20 CHAGAS STAT-PAK Tester
- 20 Microsafe® Kanülen (10μL) für Vollblut (Abnahme am Finger)
- 1 Probendiluent (6mL)
- 1 Produktbeilage

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien
- Uhr
- Pipettierer (nur für 5μL Serum- oder Plasmaproben oder 10μL venöses Vollblut)
- Sterile Einweg-Lanzetten (nur für am Finger abgenommenes Blut)
- Sterile Alkoholtupfer (nur für Vollblutproben)

LAGERUNG UND STABILITÄT
Der CHAGAS STAT-PAK Assay muss im versiegelten Originalbeutel bei 8-30°C gelagert werden. Die Diluentampulle muss auch bei 8-30°C gelagert werden. Der Satz ist bis zum Ablaufdatum haltbar, das auf dem Kartonaufkleber oder Beutel aufgedruckt ist.

HINWEIS: Keine abgelaufenen Testsätze benutzen.

VORSICHT: TESTSÄTZE NICHT EINFRIEREN

VORSICHTSMASNAHMEN
1. Der Test ist nur FÜR IN VITRO DIAGNOSE geeignet. Nur für PROFESSIONELLEN GEBRAUCH. Der Test darf nur den mit dem Satz mitgelieferten Anweisungen gemäß benutzt werden.

PROBENAHME
Der CHAGAS STAT-PAK Test wird an Vollblut, Serum oder Plasma durchgeführt.


Plasma: Das Vollblut mit Anticoagulanzien sammeln (Heparin, EDTA oder Natriumcitrat), bei 2000 U/min 10 Minuten lang zentrifugieren und das Plasmasupernatant isolieren.

Die besten Ergebnisse werden aus Patientenproben erzielt, wenn sie sofort nach der Probennahme getestet werden. Die Proben müssen nach der Probennahme sofort auf 2-8°C gekühlt werden und können bis zu 3 Tage lang benutzt werden. Falls Tests innerhalb von 3 Tagen nicht möglich sind, müssen die Proben eingefroren werden (-20°C oder kälter).

HINWEIS: Falls die Proben versandt werden sollen, müssen sie den Vorschriften für den Transport von ätiologischen Stoffen gemäß verpackt werden.

BESTÄTIGUNG DES TESTABLAUFS


TESTVERFAHREN
1. Falls die Testprobe gekühlt ist, muss sie vor Testbeginn aus dem Kühlshrank entnommen und auf Raumtemperatur erwärmt werden.
2. Die erforderliche Anzahl von CHAGAS STAT-PAK Testern aus den Beuteln entnehmen. Dazu die Beutel an der eingekerbten Kante einreißen und den Tester auf eine flache Oberfläche legen.

Bei der Probennahme niemals den Kanülenbalg drücken.

5. Die Probe in der Mitte des PROBEN-Behälters hinzufügen.

Um die Probe aus der Microsafe® Kanüle zu drücken, die Kanülenspitze auf den PROBEN-Behälter ausrichten und den Balg drücken.

NUR WENN DIE PROBE NICHT AUS DER KANÜLE FLEISSST, die Kanüle senkrecht halten und einen Finger über das Entlüftungsloch in der Nähe der schwarzen Markierung schieben. Nun die Spitze auf den PROBEN-Behälter ausrichten und den Balg zusammendrücken.

Wenn eine andere Probe (nicht am Finger abgenommen) getestet wird, muss die erforderliche Probenmenge mit einer genauen Pipette auf den Probenbehälter aufgetragen werden.
   a) Serum oder Plasma - 5μL
   b) Vollblut - 10μL


HINWEIS: Das Probenvolumen ist kritisch. Es muss eine genaue Pipette benutzt werden. Wenn mehr als 5μL Serum oder Plasma oder 10μL Blut zugegeben wird, verringert das die Empfindlichkeit.
QUALITÄTSKONTROLLE

Im KONTROLL-Bereich muss immer eine rosa/violette Linie erscheinen, wenn der Test korrekt durchgeführt wurde und die Vorrichtung korrekt funktioniert. Sie dient als IgGVerfahrenskontrolle. Ein durchsichtiger Hintergrund im TEST-Bereich ist eine interne negative Verfahrenskontrolle.


INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Negatives Ergebnis


Positives Ergebnis

Zwei rosa/violette Linien - eine im TEST-Bereich, die andere im KONTROLL-Bereich zeigen ein positives Ergebnis an. Die Linie im TEST-Bereich kann anders aussehen als die Linie im KONTROLL-Bereich.


Ungültige Ergebnisse

Im KONTROLL-Bereich muss immer eine rosa/violette Linie vorhanden sein, unabhängig davon ob die TEST-Linie vorhanden ist oder nicht. Falls im KONTROLL-Bereich keine deutliche rosa/violette Linie vorhanden ist, ist der Test ungültig und muss mit einem neuen Tester wiederholt werden.

Keine TEST- oder KONTROLL-Linie

Keine KONTROLL-Linie
Ein ungültiges Ergebnis weist auf ein Problem mit dem laufenden Test hin, entweder bezogen auf die Probe oder auf den Tester. Falls auch nach wiederholten Tests kein gültiges Ergebnis erhalten werden kann, wenden Sie sich unter +1-631-924-1135 oder info@chembio.com an Chembio Diagnostic Systems.

**ERWARTETE ERGEBNISSE**


**BESCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS**


**LEISTUNGSSCHARACTERISTIKA**


**Empfindlichkeit und Spezifizität**


<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th><strong>IA / IHA / ELISA</strong></th>
<th></th>
<th></th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Positiv</td>
<td>197</td>
<td>3</td>
<td>200</td>
</tr>
<tr>
<td>Negativ</td>
<td>6</td>
<td>144</td>
<td>150</td>
</tr>
<tr>
<td>Summe</td>
<td>203</td>
<td>147</td>
<td>350</td>
</tr>
</tbody>
</table>


In einer anderen Studie (9) bestehend aus 352 Serumproben aus 4 verschiedenen lateinamerikanischen Ländern zeigte der Chembio CHAGAS STAT-PAK Assay eine Gesamtempfindlichkeit von 100% und eine Spezifität von 98,6% im Vergleich zur herkömmlichen Serologie (IIA, IHA, ELISA). Diese Ergebnisse werden unten detailliert.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Land</th>
<th>Anzahl der Personen</th>
<th>Chagas</th>
<th>Nicht Chagas</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>STAT-PAK Positiv / Summe</td>
<td>STAT-PAK Positiv / Summe</td>
</tr>
<tr>
<td>Honduras</td>
<td>204</td>
<td>157/157</td>
<td>0/47</td>
</tr>
<tr>
<td>Venezuela</td>
<td>45</td>
<td>40/40</td>
<td>0/5</td>
</tr>
<tr>
<td>Bolivia</td>
<td>21</td>
<td>10/10</td>
<td>0/11</td>
</tr>
<tr>
<td>Argentina</td>
<td>82</td>
<td>72/72</td>
<td>1/10</td>
</tr>
<tr>
<td>Summe</td>
<td>352</td>
<td>279/279</td>
<td>1/73</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Es wurde auch eine Stude mit 5998 Seren aus Honduras, El Salvador und Nicaragua durchgeführt, um die Leistung des Chembio CHAGAS STAT-PAK Assay mit der eines kommerziellen ELISA Tests zu vergleichen (10).

<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th>Positiv</th>
<th>Negativ</th>
<th>Summe</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>ELISA</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Positiv</td>
<td>1328</td>
<td>3</td>
<td>1331</td>
</tr>
<tr>
<td>Negativ</td>
<td>0</td>
<td>4667</td>
<td>4667</td>
</tr>
<tr>
<td>Summe</td>
<td>1328</td>
<td>4670</td>
<td>5998</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Die Gesamtempfindlichkeit und -spezifität im Vergleich zum ELISA Test betrugen 99,8% bzw. 100%. Von den 5998 Seren waren 3400 Blutspenderseren; bei diesen wurde festgestellt, dass 4,6% davon mit ELISA und CHAGAS STAT-PAK Assays positiv testeten. Bei diesen 3400 Seren gab es eine 100%ige Übereinstimmung zwischen ELISA und CHAGAS STAT-PAK Assay.

**Bestimmtheit**

**Intra-Assay**


**Inter-Assay**


**Interferenz und Kreuzreaktivität**

Die Testleistung wurde mit verschiedenen Antikörpertiter von Chagas und Proben mit verschiedenen interferierenden Substanzen bewertet. Es wurde für den Chembio
CHAGAS STAT-PAK Assay keine Interferenz durch Bilirubin, Hämoglobin und Triglyceride festgestellt. Rheumatoid-Faktorpegel bis zu 80 IU/mL haben keine Interferenz mit dem Test; höhere Pegel können zu fälschlichen positiven Ergebnissen führen. Im Chembio CHAGAS STAT-PAK Assay wurde keine Kreuzreaktivität durch mit Leishmaniase infizierte Seren festgestellt.

LITERATURVERWEISE
USI PREVISTI
CHAGAS STAT-PAK Chembio è un test di screening immunocromatografico monouso per il rilevamento di anticorpi anti- *Trypanosoma cruzi* nel sangue, nel siero o nel plasma umano. Il test è utilizzato per la diagnosi del morbo di Chagas unitamente ad altri criteri.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE
Il morbo di Chagas è causato dal *T. cruzi*, un protozoo parassita dell’uomo e di un’ampia gamma di insetti ed animali. Desta una viva preoccupazione sanitaria in America Latina e crescenti timori negli Stati Uniti ove il numero di immigrati infetti tende ad aumentare [1]. In America Latina si stima che 120 milioni di persone, pari al 25% della popolazione, abiti aree endemiche ove sussiste il rischio di infezione e che da 16 a 18 milioni di abitanti circa delle zone rurali e urbane siano stati contagiati da *T. cruzi* [2]. L’incidenza dell’infezione congenita è del 10% per i bambini nati da madri affette da morbo di Chagas. Circa il 90% degli individui affetti raggiunge lo stadio cronico dell’infezione. Tra questi, circa il 30% è caratteristicamente affetto da cardiomiopatia e/o megasindromi che interessano l’esofago o il colon (mega-esofago o megacolon). La manifestazione principale del morbo di Chagas è una miocardite cui consegue un’elevata morbilità o mortalità [3-5].

L’infezione avviene a causa del morso di una triatomina (un insetto ematofago) che libera i tripomastigoti infetti con le feci quando si alimenta del sangue dei mammiferi ospiti. Nei paesi di endemia ove non tutti i campioni sanguigni sono controllati e non sono disponibili metodi di identificazione, l’infezione può avvenire anche per emotrasfusione. In alternativa, l’infezione può aver luogo durante il trapianto di organi, l’ingestione di cibo contaminato e per via congenita.

Per prevenire la malattia non sono disponibili vaccini né chemioterapia, tuttavia esiste una terapia farmacologica efficace se somministrata ai bambini prima dell’insorgere dello stadio cronico della malattia. Gli antigeni ricombinanti costituiscono uno strumento pratico in grado di migliorare le attuali metodiche di diagnosi sierologica della malattia di Chagas. Attualmente sono disponibili per la diagnosi alcuni test, ad esempio l’immunofluorescenza, l’emoagglutinazione, la fissazione di complemento, il dosaggio radioimmunologico e l’ELISA[6-8].

CHAGAS STAT-PAK Chembio è un test di screening immunocromatografico che impiega una combinazione unica di antigeni ricombinanti ad elevata specificità per il rilevamento
degli anticorpi anti-\textit{T. cruzi}. È veloce e facile da usare e può essere conservato a temperatura ambiente.

**PRINCIPIO DEL TEST**
CHAGAS STAT-PAK Chembio è un test di screening immunocromatografico rapido per il rilevamento degli anticorpi anti-\textit{T. cruzi}. Il metodo impiega una combinazione unica di una proteina specifica legante l’anticorpo coniugata con particelle di colorante e con gli antigeni che sono legati alla membrana (la fase solida). Il saggio evidenzia un grado elevato di sensibilità e specificità.

Il campione di test viene applicato al micropozzetto CAMPIONE. Con il diffondersi lateralmente del campione attraverso la membrana, la specifica proteina anticorpale coniugata al colorante si lega alle immunoglobuline umane del campione. Se il campione contiene anticorpi anti-\textit{T. cruzi}, il complesso si lega agli antigeni sulla fase solida dell’area di TEST formando una linea di colore rosa/violetto. In assenza di anticorpi anti-\textit{T. cruzi} nell’area di TEST non si evidenziano linee di alcun genere. Il test CHAGAS STAT-PAK Chembio conferisce anche i mezzi per controllare l’antigene IgG. Continuando a migrare lungo la membrana, il campione produce una linea rosa/violetto nella zona di CONTROLLO che attesta il corretto funzionamento dei reagenti.

**MATERIALI FORNITI**
Ogni kit contiene i seguenti componenti necessari ad eseguire 20 test
- 20 dispositivi di test CHAGAS STAT-PAK
- 20 capillari Microsafe$^\text{®}$ da 10μL per sangue intero prelevato con pungidito
- 1 diluente campione (6mL)
- 1 foglio illustrativo

Materiali occorrenti non forniti
- Timer
- Pipetta (per 5μL di campioni di siero o plasma o solo 10μL di sangue intero venoso)
- Lancette monouso sterili (solo per prelievi di sangue intero con pungidito)
- Tamponi sterilizzati in alcool (solo per campioni di sangue intero)

**CONSERVAZIONE E STABILITÀ**
CHAGAS STAT-PAK deve essere conservato a 8-30°C nella busta originale sigillata. Anche la fiala del diluente deve essere conservata a 8-30°C. Il kit è stabile fino alla data impressa sull’etichetta della scatola e/o della busta.

**NOTA:** non utilizzare kit di test scaduti.

**ATTENZIONE:** NON CONGELARE I KIT DEL TEST

**PRECAUZIONI**
1. Il test è indicato unicamente per \textit{USO DIAGNOSTICO IN VITRO}. SOLO PER USO PROFESSIONALE Utilizzare il test solo nel rispetto delle istruzioni fornite a corredo del kit.
2. Gestire tutti i campioni come raccomandato per la conservazione del siero umano potenzialmente infetto o dei campioni di sangue nel manuale CDC-NIH, Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4a ed., 1999.
3. Indossare indumenti protettivi adatti (guanti, camice, occhiali di sicurezza) nel maneggiare i campioni. Evitare ogni contatto con le mani, gli occhi, il naso o la bocca durante la raccolta dei campioni e il test.
4. Non pipettare con la bocca nessun materiale. Non fumare, mangiare né bere nelle
aree ove siano conservati i campioni o i materiali del kit.
5. Dopo aver completato il saggio, sterilizzare in autoclave tutti i materiali per un'ora a 125°C. In alternativa, è possibile trattare i materiali con una soluzione al 10% di candeggina. Smaltire attentamente i materiali in buste per materiali biologici a rischio.

**RACCOLTA DEL CAMPIONE**

Il test CHAGAS STAT-PAK Chembio si esegue su sangue intero, siero o plasma.

**Sangue intero:** raccogliere il sangue intero in capillari contenenti eparina, EDTA o citrato di sodio. Pungere il dito con il pungidito ed eliminare asciugando la prima goccia. Raccogliere la seconda goccia con un capillare da 10μL Microsafe® monouso (fornito). **Non spremere con troppa forza il dito**. Attenersi alle istruzioni fornite.

**Siero:** il siero utilizzato proviene da sangue intero raccolto in condizioni asettiche per venoputatura in un capillare pulito senza anticoagulante. Lasciare che il sangue si coaguli a temperatura ambiente. Centrifugare il sangue a 2000 gir/min per 10 minuti a temperatura ambiente. Rimuovere il siero dal coagulo non appena possibile per evitare l'emolisi.

**Plasma:** raccogliere il sangue intero con anticoagulanti (eparina, EDTA o citrato di sodio), centrifugare a 2000 giri/min per 10 minuti e isolare il plasma supernatante.

I campioni prelevati dal paziente hanno prestazioni migliori se sono analizzati subito dopo la raccolta. Refrigerare i campioni subito dopo la raccolta a 2-8°C e utilizzare entro 3 giorni. Se non fosse possibile eseguire il test entro 3 giorni, congelare i campioni a -20°C o a temperature inferiori.

**NOTA:** se i campioni devono essere spediti, confezionarli come rischiesto dalla normativa vigente per il trasporto degli agenti eziologici.

**CONFERMA DELL'ESECUZIONE DEL TEST**

CHAGAS STAT-PAK Chembio è l’unico test rapido che consenta di confermare visivamente il funzionamento dei reagenti della linea di controllo PRIMA del test. Guardando il dispositivo di test, si noterà una banda GIALLA nell’area di CONTROLLO della scheda di reazione. Questo complesso colorato indica che i reagenti necessari al test funzionano correttamente e SONO davvero presenti ed attivi. Dopo l’aggiunta del campione, la banda GIALLA migra lungo la membrana fino a raggiungere il bordo principale del colorante coniugato ed è quindi rimossa completamente dal dispositivo di test.

Quando il test è completato, si osserverà la consueta linea rosa/violetto nell’area di CONTROLLO del dispositivo di test sia per i campioni positivi, sia per quelli negativi (serve quale controllo interno delle IgG e funge da conferma della corretta esecuzione del test). Una linea rosa/violetto presente sia nell’area di TEST, sia in quella di CONTROLLO sta a indicare un risultato positivo.

**PROCEDURA DEL TEST**

1. Se il campione di test è refrigerato, estrarlo dal frigorifero e attendere che raggiunga la temperatura ambiente prima di eseguire il test.
2. Rimuovere il numero richiesto di dispositivi di test CHAGAS STAT-PAK dalle buste, strappando lungo la linea intaccata e posare il dispositivo su una superficie piana.
3. Etichettare il dispositivo di test con il nome del paziente o un numero identificativo.
4. Pungere il dito con il pungidito ed eliminare asciugando la prima goccia. Raccogliere la seconda goccia con un capillare Microsafe® tenuto orizzontalmente come illustrato. Toccare con la punta del capillare il campione di sangue. Per effetto della capillarità, il campione è attirato fino alla linea nera di riempimento ove si arresta.

Non spremere mai il bulbo del capillare durante il campionamento.

5. Depositare il campione al centro del micropozzetto CAMPIONE.

SOLO SE IL CAMPIONE NON ESCE DAL CAPILLARE, mantenere il capillare in verticale e fare scorrere un dito sul foro di sfiato vicino al segno nero. Allineare quindi la punta con il micropozzetto CAMPIONE e spremere il bulbo.

Se si esegue il test con un campione diverso da quello di sangue intero prelevato con pungidito, utilizzare un capillare di precisione e depositare la quantità di campione occorrente nel micropozzetto campione.
   a) Siero o plasma - 5μL
   b) Sangue intero - 10μL

6. Capovolgere il flacone del diluente e mantenerlo in verticale (non angolato) sopra il micropozzetto campione. Aggiungere lentamente il diluente in gocce (6 gocce sono ~240μL), nel micropozzetto CAMPIONE

7. Leggere i risultati entro 15 minuti dall’aggiunta del diluente. Attendere15 minuti prima di confermare un risultato negativo. **Non leggere alcun risultato prima che siano trascorsi 15 minuti.**

**NOTA:** il volume campione è determinante, utilizzare pertanto una pipetta di precisione. L’aggiunta di oltre 5μL di siero o plasma o di 10μL di sangue diminuisce la sensibilità del test.
CONTROLLO DELLA QUALITÀ
Se il test è stato eseguito correttamente e il dispositivo funziona, nell’area di CONTROLLO apparirà sempre una linea rosa/violetto che funge da controllo procedurale interno delle IgG. Se lo sfondo appare chiaro nell’area di TEST, il controllo procedurale interno è negativo.

La buona prassi di laboratorio (GLP) raccomanda l’impiego di materiali di controllo standard che affianchino i test del campione e ne assicurino la corretta esecuzione. A tale fine, utilizzare i controlli positivi e negativi disponibili in commercio basati su plasma o siero. Utilizzare i controlli conformemente alle istruzioni per l’ESECUZIONE DEL TEST contenute nel foglietto illustrativo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato negativo
Il risultato è negativo quando si visualizza una linea rosa/violetto nell’area di CONTROLLO e nessuna linea visibile nell’area di TEST. Un risultato negativo al 15° minuto indica che non vi sono anticorpi evidenziabili anti-morbo di Chagas nel campione. Un risultato negativo non preclude la possibilità di un’infezione da morbo di Chagas.

Risultato positivo
Il risultato è positivo quando si evidenziano due linee rosa/violette: una nell’area di TEST e una nell’area di CONTROLLO. La linea nell’area di TEST può apparire diversa da quella dell’area di CONTROLLO.

Nota: l’intensità della colorazione delle linee rispettivamente di TEST e di CONTROLLO è soggetta a variazioni. Se una linea diviene visibile nell’area di TEST ed anche nell’area di CONTROLLO, il risultato è positivo.

Risultati nonvalidi
Nell’area di CONTROLLO deve sempre apparire una linea rosa/violetto indipendentemente dalla comparsa o meno di una linea nell’area di TEST. Se non si visualizza una linea distinta rosa/violetto nell’area di CONTROLLO, il test non è valido e deve essere ripetuto utilizzando un dispositivo nuovo.
Un risultato non valido indica un problema di esecuzione del test, sia esso imputabile al campione o al dispositivo. Se non fosse possibile ottenere un risultato valido ripetendo il test, rivolgersi a Chembio Diagnostic Systems al numero: +1 631 924 1135 o all’indirizzo e-mail: info@chembio.com.

**RISULTATI ATTESI**
Questo è un test qualitativo per il rilevamento degli anticorpi anti-*T. cruzi* presenti nel sangue, nel siero o nel plasma. La presenza degli anticorpi è indice di infezione da *T. cruzi* e il risultato atteso sarà positivo. In assenza di infezione, si osserverà un risultato negativo. La diagnosi si basa sui risultati del test CHAGAS STAT-PAK.

**LIMITI DELLA PROCEDURA**
Osservare rigorosamente la procedura CHAGAS STAT-PAK e le norme per l’interpretazione dei risultati. Il saggio è indicato per il rilevamento degli anticorpi anti-*T. cruzi* nel siero, nel plasma o nel sangue intero dell’uomo. Ogni altro risultato di test eseguiti su altri fluidi corporei, su un pool di sieri o plasma non deve essere utilizzato.

Per i campioni positivi, prima di pronunciare la diagnosi finale, dovrà essere eseguito un test di riferimento specifico, assieme alla valutazione clinica delle condizioni del paziente. Il test rapido da solo non è infatti utilizzabile per diagnosticare un’infezione da *T. cruzi* anche se si è rilevata la presenza di anticorpi anti-*T. cruzi*. Un risultato negativo rilevato in qualsiasi momento non preclude la possibilità di un’infezione da *T. cruzi*. Si renderanno pertanto necessari altri test di follow-up che utilizzino i metodi clinicamente disponibili se il risultato del test CHAGAS STAT-PAK Chembio è negativo e i sintomi clinici persistono e non collimano con gli altri dati clinici disponibili.

**CARATTERISTICHE DELLA PERFORMANCE**
Per il test CHAGAS STAT-PAK si utilizzano la proteina legante l’anticorpo e antigeni altamente specifici. La sensibilità del test CHAGAS STAT-PAK è stata confrontata con un test tra i principali disponibili in commercio per il morbo di Chagas e il limite di rilevamento registrato è risultato sostanzialmente equivalente.

**Sensibilità e specificità**
Sono stati eseguiti studi clinici sperimentali per valutare il test CHAGAS STAT-PAK Chembio. In uno studio (9) è stato sottoposto al test un gruppo di 393 campioni di siero codificati provenienti da aree endemiche del Brasile. 200 di questi provenivano da pazienti affetti da morbo di Chagas conclamato e altri 150 da individui sani. La condizione di questi 350 campioni è stata confermata da saggi sierologici convenzionali - immunofluorescenza indiretta (IIA), emoagglutinazione indiretta (IHA ed ELISA). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th>Positivo</th>
<th>Negativo</th>
<th>Totale</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>IIA / IHA / ELISA</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Positivo</td>
<td>197</td>
<td>3</td>
<td>200</td>
</tr>
<tr>
<td>Negativo</td>
<td>6</td>
<td>144</td>
<td>150</td>
</tr>
<tr>
<td>Totale</td>
<td>203</td>
<td>147</td>
<td>350</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Questi risultati indicano una sensibilità del 98,5% e una specificità del 96,0%. Sono stati ugualmente sottopostì a test altri 43 campioni di siero provenienti da individui non infetti da *T. cruzi* ma affetti da altre malattie. Questi campioni contenevano: leishmaniosi viscerale (9), leishmaniosi mucocutanea (10), AIDS (3), epatite B (11) e malattie autoimmuni (10). Quattro sieri di questi 43 (2 con leishmaniosi viscerale e 2 con epatite
B) sono risultati positivi al test con il saggio CHAGAS STAT-PAK Chembio con una specificità complessiva risultante del 94,8% per i 193 sieri non infetti da Chagas dello studio. È interessante osservare che dei 19 campioni che non erano infetti da *T. cruzi* ma manifestavano leishmaniosi, 10 hanno prodotto risultati positivi ai test sierologici convenzionali (IIA, IHA, ELISA).

In un altro studio (9), comprendente 352 campioni di siero provenienti da 4 paesi latinoamericani, il saggio CHAGAS STAT-PAK Chembio ha registrato una sensibilità complessiva del 100% e una specificità del 98,6% rispetto ai test sierologici convenzionali (IIA, IHA, ELISA). Questi risultati sono elencati in dettaglio.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Paese</th>
<th>Numero di soggetti</th>
<th>Affetti da morbo di Chagas</th>
<th>Non affetti da morbo di Chagas</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>STAT-PAK Positivo / totale</td>
<td>STAT-PAK Positivo / totale</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Honduras</td>
<td>204</td>
<td>157/157</td>
<td>0/47</td>
</tr>
<tr>
<td>Venezuela</td>
<td>45</td>
<td>40/40</td>
<td>0/5</td>
</tr>
<tr>
<td>Bolivia</td>
<td>21</td>
<td>10/10</td>
<td>0/11</td>
</tr>
<tr>
<td>Argentina</td>
<td>82</td>
<td>72/72</td>
<td>1/10</td>
</tr>
<tr>
<td>Totale</td>
<td>352</td>
<td>279/279</td>
<td>1/73</td>
</tr>
</tbody>
</table>

È stato inoltre condotto uno studio su un totale di 5998 sieri dell’Honduras, El Salvador e Nicaragua per confrontare la performance del test CHAGAS STAT-PAK Chembio con quella di un test ELISA commerciale (10).

La sensibilità e la specificità complessive sono state egualmente confrontate con quelle di un test ELISA e sono risultate rispettivamente del 99,8% e del 100%.

Dei 5998 sieri, 3400 provenivano da donatori e registravano un tasso di positività del 4,6% sia con il test ELISA, sia con il saggio CHAGAS STAT-PAK. Per questi 3400 sieri, i saggi ELISA e CHAGAS STAT-PAK sono concordi al 100%.

**Precisione**

**Intra-test**

La precisione intra-test è stata determinata utilizzando 10 repliche di tre diversi campioni contenenti diverse concentrazioni anticorpi. I valori negativi e positivi sono stati identificati esattamente il 100% delle volte.

**Inter-test**

La precisione inter-test è stata determinata utilizzando gli stessi tre campioni in 10 diverse repliche con tre lotti diversi di dispositivi di test per un periodo di sei mesi. Di nuovo sono stati osservati risultati positivi e negativi il 100% delle volte.

**Interferenza e reattività incrociata**

La performance del test è stata valutata utilizzando alcuni sieri contenenti titoli diversi di...
anticorpi anti-Chagas e campioni contenenti alcune sostanze interferenti. Non sono state riscontrate interferenze da bilirubina, emoglobina e trigliceridi con il saggio CHAGAS STATPAK Chembio. I livelli del fattore reumatoide fino a 80 IU/mL non interferiscono con il test. I livelli a questo superiori possono indurre risultati falsi-positivi. Non è stata rilevata reattività incrociata in sieri affetti da leishmaniosi con il saggio CHAGAS STATPAK Chembio.

RIFERIMENTI

PER ULTERIORI INFORMAZIONI, RIVOLGERSI A

CHEMBIO DIAGNOSTIC SYSTEMS, INC.
3661 HORSEBLOCK ROAD
MEDFORD, NY 11763
USA
Tel: +1 631 924 1135
Fax: +1 631 924 2065
Email: info@chembio.com
Sito web: www.chembio.com

INFORMAZIONI PER L’ORDINE

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
The Netherlands

10-6192-0 Rev 5 genn 2017
USO O APLICACION
El CHAGAS STAT-PAK de Chembio es un reactivo diagnostico 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 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 Triatomineos (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 vias de infección son la transmisión materno-fetal (Chagas congenito) oral, en el caso de ingestión de productos contaminados por *T. cruzi* y eventualmente en ocasión de transplante 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 parasito. 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 proteinas 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* está 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 colectar 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 diagnostica 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. Centrifugue 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 diagnostica 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:

   ![Imagen de tubo Microsafe®]

   **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.

   ![Imagen de 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 alíñe la extremidad con el pocillo SAMPLE y presione el bulbo

   ![Imagen de tuboMicrosafe® y dedo deslizando]

   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.

   ![Imagen de botella de diluyente y gotas]

7. Lea los resultados dentro de los 15 minutos después del agregado del diluyente. Espere que transcurran 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.

INTERPRETACIÓN 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.
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 observará un resultado negativo. Estas conclusiones se basan en el análisis de mas 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 proteinas 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:

<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th>Positivo</th>
<th>Negativo</th>
<th>Total</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td><strong>IIA / HAI / ELISA</strong></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Positivo</td>
<td>197</td>
<td>3</td>
<td>200</td>
</tr>
<tr>
<td>Negativo</td>
<td>6</td>
<td>144</td>
<td>150</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>203</td>
<td>147</td>
<td>350</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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 mucocutánea, (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:

<table>
<thead>
<tr>
<th>País</th>
<th>N° De Individuos</th>
<th>Chagasicos</th>
<th>No Chagasicos</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>STAT-PAK</td>
<td>STAT-PAK</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>Positivos / Total</td>
<td>Positivos / Total</td>
</tr>
<tr>
<td>Honduras</td>
<td>204</td>
<td>157/157</td>
<td>0/47</td>
</tr>
<tr>
<td>Venezuela</td>
<td>45</td>
<td>40/40</td>
<td>0/5</td>
</tr>
<tr>
<td>Bolivia</td>
<td>21</td>
<td>10/10</td>
<td>0/11</td>
</tr>
<tr>
<td>Argentina</td>
<td>82</td>
<td>72/72</td>
<td>1/10</td>
</tr>
<tr>
<td>Totale</td>
<td>352</td>
<td>279/279</td>
<td>1/73</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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

<table>
<thead>
<tr>
<th>CHAGAS STAT-PAK</th>
<th>Positivo</th>
<th>Negativo</th>
<th>Total</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Positivo</td>
<td>1328</td>
<td>3</td>
<td>1331</td>
</tr>
<tr>
<td>Negativo</td>
<td>0</td>
<td>4667</td>
<td>4667</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>1328</td>
<td>4670</td>
<td>5998</td>
</tr>
</tbody>
</table>

La sensibilidad y la especificidad del CHAGAS STAT-PAK comparada con el ELISA fue 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 fue 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 observó 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

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

IFORMACION DE ORDENES

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
The Netherlands

40

10-6192-0 Rev 5 enero 2017