

PRUEBA RÁPIDA DE CHIKUNGUNYA IgG/IgM

(sangre, suero y plasma)

CHGM 0323/01

REF DMCHI01

Uso deseado

La prueba rápida de Chikungunya IgG/IgM (sangre, suero y plasma) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus de Chikungunya en muestras de sangre, suero y plasma humano.

Resumen

También conocido como 'CHIKV', el virus de chikungunya es un virus de ARN perteneciente al género *Alfavirus* [1], de cadena sencilla con polaridad positiva [2]. Se transmite por la picadura de un mosquito hembra *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus* infectado [3]. El ciclo de este virus comienza con el ser humano pues es su principal reservorio, para ello un mosquito hembra *Aedes aegypti* o *albopictus* debe ingerir sangre de un ser humano infectado con CHIKV, una vez dentro, el virus comenzará a replicarse en las glándulas salivales de los mosquitos y necesitará de mínimo 48 horas para que el mosquito pueda transmitirlo [4]. Los síntomas causados por este virus pueden durar días o semanas, estos son: fiebre, fuertes dolores de cabeza, articulares y musculares, náuseas, cansancio y erupciones en la piel. Hasta ahora no existe tratamiento o vacuna contra el virus de chikungunya, por lo que solo se busca aliviar los síntomas con reposo, ingesta de agua y analgésicos. La aparición de anticuerpos (Ac) está relacionada al avance del virus pues los Ac IgM son los primeros en aparecer al inicio de la enfermedad, más tarde aparecen los Ac IgG que permanecen por más tiempo [1]. La prevención, el diagnóstico y la protección frente a mosquitos infectados puede ayudar al control de este virus [5].

Principio

La prueba rápida Chikungunya para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus de chikungunya en muestras de sangre, suero y plasma humano es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El cartucho posee una membrana con tres regiones: dos de prueba (IgG e IgM) y una de control (C). Dicha membrana posee un 'conjugado' conformado por partículas de oro coloidal e impresos anticuerpos de captura 'línea de prueba' y anticuerpos anti-ratón 'línea control'. Una vez que la muestra es depositada en el pozo (S) del cartucho junto con el buffer, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de anticuerpos IgG o IgM contra el virus de Chikungunya por debajo del límite de detección no se formará el complejo antígeno-anticuerpo evitando la aparición de una línea de color en la región de prueba (IgG o IgM), esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de anticuerpos IgG o IgM contra el virus de Chikungunya por encima del límite de detección se formará el complejo antígeno-anticuerpo generando una aparición de una línea de color en la región de prueba (IgG o IgM/ambas), esto indica un resultado positivo. La prueba incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado conformado por partículas de oro coloidal unidos a un antígeno recombinante a chikungunya, anticuerpos de captura IgG e IgM anti-humano de ratón y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilice bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada, a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°C). Nota: No Congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Almacenamiento de la muestra

- No deje las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Las muestras de sangre, suero y plasma pueden almacenarse en refrigeración (2-8°C), aunque los últimos dos solo por un máximo de 3 días.
- Las muestras obtenidas por punción capilar deben procesarse inmediatamente.
- Utilice muestras claras no hemolizadas, si existen partículas centrifugue, filtre y obtenga la muestra.
- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.
- Puede utilizar EDTA K2, heparina sódica, citrato sódico y oxalato de potasio como anticoagulante para recolectar la muestra.

Materiales

Materiales incluidos:

- Prueba rápida en cartucho
- Manual de uso
- Buffer

Materiales requeridos, pero no incluidos:

- Temporizador
- Lanceta (punción capilar)
- Almohadilla con alcohol

Materiales opcionales:

- Centrifuga
- Sistema para venopunción

Obtención de muestra

Por punción capilar:

- A. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón, después seque el área.
- B. Masajea la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia la yema del dedo anular o medio.
- C. Perfore la piel con una lanceta estéril y limpie la primera señal de sangre.
- D. Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
- E. Con ayuda de un gotero: Presione el bulbo del gotero y coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra, suelte el bulbo para recolectar la muestra. Nota: Evite generar burbujas de aire.

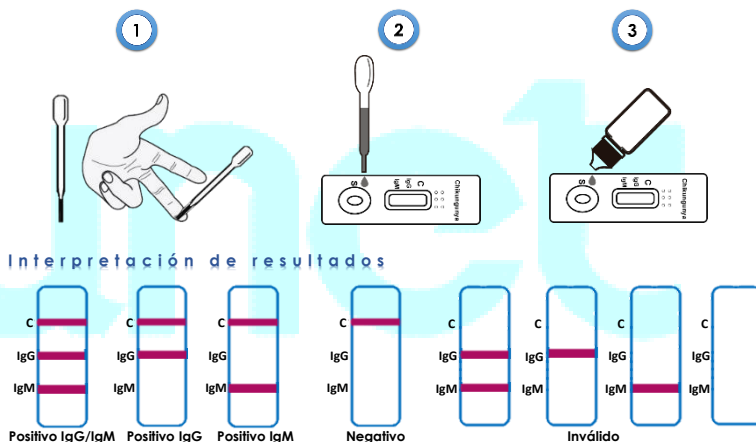
Por venopunción:

- A. Tome la muestra según los criterios estándar. Para ello puede emplear un tubo de anticoagulantes (EDTA, heparina, citrato y oxalato) y utilizar la muestra directamente en la prueba rápida.
- A. Separe el suero o el plasma de la sangre tan pronto sea posible, esto con la finalidad de evitar la hemólisis de la muestra.

Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y buffer alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba. Retire el cartucho de la bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Obtenga la muestra cómo se indicó en la sección 'obtención de muestra'.
2. Tome 3 gotas de sangre o 2 gotas de suero o plasma (según la muestra obtenida) y agréguelas en el pozo (S) del cartucho.
3. Agregue 1 gota del buffer (aproximadamente 40 µL) al pozo (S) del cartucho.
4. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 10 minutos. Nota: No interprete el resultado después de 15 minutos.



(Consulte la ilustración anterior)

IgG/IgM POSITIVO: Aparece una línea de color en la región control (C) y dos líneas de color, una en la región de prueba IgG y otra en la región de prueba IgM.

Nota: La intensidad del color en la región de prueba (IgG o IgM) puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

IgG POSITIVO: Solo aparece una línea de color en la región control (C) y otra línea de color en la región de prueba IgG.

IgM POSITIVO: Solo aparece una línea de color en la región control (C) y otra línea de color en la región de prueba IgM.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (T).

INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región de control (C) confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos o negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

Limitaciones

1. La prueba debe usarse para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra el virus de chikungunya solo en muestras de sangre, suero o plasma humano. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de anticuerpos contra el virus del chikungunya pueden determinarse mediante esta prueba cualitativa.
2. La prueba rápida de chikungunya IgG/IgM (sangre, suero y plasma) solo indicará la presencia de anticuerpos IgG/IgM contra el virus de chikungunya en la muestra y no debe usarse como el único criterio para el diagnóstico de la infección por el virus de chikungunya.
3. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
4. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, realice una prueba con otro método clínico disponible. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección.
5. Los resultados positivos de los pacientes que recibieron transfusiones de sangre u otros productos de sangre, deben ser analizados cuidadosamente.
6. Los resultados anormales pueden ocurrir según el error del operador o el uso de drogas. Si se sospecha SIDA, se debe recolectar una muestra más tarde y volver a probarse.

Valores esperados

La prueba rápida de Chikungunya IgG/IgM (sangre, suero y plasma) para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus de Chikungunya en sangre, suero y plasma humano fue comparada con una prueba comercial de aglutinación en portaobjetos, se obtuvo una precisión global de 97.70%.

Características de rendimiento

Sensibilidad, Especificidad y Precisión (IgG)

Se utilizó la prueba rápida Chikungunya (sangre, suero y plasma) para procesar un total de 68 muestras, de las cuales solo 36 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por el virus del Chikungunya. Los resultados de las 68 muestras fueron confirmados por medio de una prueba un kit comercial de Chikungunya IgG EIA, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	EIA		Resultados totales
	Resultados		
	Positivo	33	
Negativo	2	32	34
Resultados totales	35	33	68

Sensibilidad relativa: 94.30% (95% IC: 80.80%-99.30%)
 Especificidad relativa: 97.00% (95% IC: 84.20%-99.90%)
 Precisión relativa: 95.60% (95% IC: 87.60%-99.10%)
 IC: Intervalo de Confianza

Sensibilidad, Especificidad y Precisión (IgM)

Se utilizó la prueba rápida Chikungunya (sangre, suero y plasma) para procesar un total de 93 muestras, de las cuales solo 72 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por el virus del Chikungunya. Los resultados de las 93 muestras fueron confirmados por medio de una prueba un kit comercial de Chikungunya IgM EIA, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	EIA		Resultados totales
	Resultados		
	Positivo	65	
Negativo	7	21	28
Resultados totales	72	21	93

Sensibilidad relativa: 90.30% (95% IC: 81.00%-96.00%)
 Especificidad relativa: 99.90% (95% IC: 86.70%-100%)
 Precisión relativa: 92.50% (95% IC: 85.10%-96.90%)
 IC: Intervalo de Confianza

Precisión Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 10 réplicas por cada una de las siguientes muestras: negativa, positivo medio de IgG, positivo alto de IgG, positivo medio de IgM y positivo alto de IgM. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 10 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes muestras: negativa, positivo medio de IgG, positivo alto de IgG, positivo medio de IgM y positivo alto de IgM. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Reactividad cruzada









Se analizaron muestras positivas indicadas en la siguiente tabla con la prueba rápida Chikungunya (sangre, suero y plasma), se realizaron 10 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y una negativa a Chikungunya IgG e IgM. Ninguno presentó reactividad cruzada.

- IgG anti-HAMA
- IgG anti-FR
- HBsAg
- HBsAb
- HBeAg
- HBeAb
- HBcAb
- IgM anti-CMV
- IgG anti-Toxo
- IgM anti-Toxo
- IgG anti-VHS-1
- IgG anti-VHS2
- IgM anti-VHS-1
- IgG anti-sifilis
- IgG anti-H.Pylori
- IgG anti-CMV
- IgM anti-MONO
- IgG anti-VIH
- IgM anti-VHS-2

Referencias

- [1]. CDC & OPS. (2011). Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. ISBN: 978-92-75-31632-0
- [2]. Laiton-Donato, K., Usme-Ciro, J. A., Rico, A., Pardo, L., Martínez, C., Salas, D., Páez, A. (2015). Análisis filogenético del virus del chikungunya en Colombia: evidencia de selección purificadora en el gen E1. *Biomédica*, 36, 25. doi:10.7705/biomedica.v36i0.2990
- [3]. Organización Panamericana de la Salud. Chikungunya.
- [4]. Calderón Jiménez, A. G. (2015). Chikungunya virus. *Rev. Med. de Costa Rica y Centroamérica*.
- [5]. Organización Mundial de Salud. (2017). Chikungunya.

Índice de símbolos

	Consultar manual de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar entre 2 – 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar

