

ZIKA COMBO

(sangre total/capilar, suero o plasma)

ZKC 0126/01

REF DMZK01

Uso deseado

La prueba rápida ZIKA COMBO (sangre total/capilar, suero o plasma) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa del antígeno NS1 del virus del zika y anticuerpos IgG e IgM anti-zika en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma.

Resumen

El virus del Zika (ZIKV) es miembro de la familia *Flaviviridae*, se transmite mediante la picadura de mosquitos del género *Aedes* como los *aegypti* y *albopictus* [1]. El nombre del virus proviene del Bosque Zika en Uganda, donde se aisló el virus por primera vez en 1947 [2]. El virus del Zika está relacionado con el dengue, fiebre amarilla, encefalitis japonesa y virus del Nilo Occidental [4]. Desde la década de 1950, se conoce dentro de una zona ecuatorial limitada de África a Asia, pero no fue hasta 2007 a 2016, que el virus se propagó hacia el este, sobre el Océano Pacífico hacia América, lo cual ocasionó la epidemia del virus del Zika de 2015 a 2016. Los síntomas causados por este virus pueden ser leves similares a los de una leve fiebre por dengue que se tratan analgésicos y reposo, o bien no existir (asintomáticos) [1,3]. El Zika también se puede pasar de una mujer embarazada al feto, lo cual puede resultar en una microcefalia, graves malformaciones cerebrales y otras anomalías congénitas [4,5]. El diagnóstico de la infección por el virus del Zika puede realizarse por análisis de laboratorio de muestras de sangre o de otros líquidos corporales, y debe de diferenciarse de la infección por flavivirus a fines [6].

Principio

La prueba rápida ZIKA COMBO (sangre total/capilar, suero o plasma) para la detección cualitativa del antígeno NS1 del virus del zika y anticuerpos IgG e IgM anti-zika en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma, es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consta de un cartucho, el cual está dividido en dos secciones:

NS1 (Antígeno): Contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba 'NS1' que tiene impreso anti-NS1, y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La prueba también posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos anti-NS1 del virus del zika.

IgG e IgM (Anticuerpo): Contiene una membrana dividida en tres regiones: dos de prueba 'IgG e IgM' que tiene impreso por separado anti-IgG y anti-IgM y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La prueba también posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con antígenos anti-IgG e IgM del virus del zika.

Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar. Si la muestra no contiene o tiene concentraciones del antígeno NS1 del virus del zika y anticuerpos IgG e IgM anti-zika por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en las regiones NS1/IgG/IgM, esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones del antígeno NS1 del virus del zika y anticuerpos IgG e IgM anti-zika mayores al límite de detección se formará una línea de color en las regiones NS1/IgG/IgM, esto indica un resultado positivo. La prueba tiene un control 'región C', donde siempre debe de aparecer una línea de color, que indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La sección de NS1 contiene un conjugado de nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos anti-NS1 del virus del Zika y anticuerpos de captura.

La sección de IgG e IgM contiene un conjugado de nanopartículas de oro coloidal recubiertas con antígenos anti-IgM/anti-IgG y antígenos de captura.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Instructivo de uso
- Gotero para NS1
- Gotero para IgG-IgM
- Lanceta (Punción capilar)
- Almohadilla con alcohol

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Sistema de toma de muestra por venopunción

Opcionales:

- Centrifugadora

V.

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 con anticoagulantes (EDTA, heparina, citrato u oxalato) y utilizar la muestra directamente en la prueba rápida.
- Suero o Plasma
- 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.

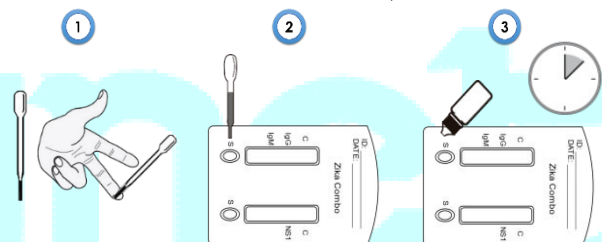
Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Las muestras de sangre pueden almacenarse por dos días máximo a una temperatura de 2-8 °C.
- Suero y plasma pueden almacenarse por máximo 3 días a una temperatura de 2-8 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben de almacenarse por debajo de los -20 °C.
- No congelar las muestras de sangre a excepción del suero o plasma, recuerde evitar ciclos de congelación y descongelación repentinos y continuos.
- Las muestras obtenidas por punción capilar deben procesarse inmediatamente.
- Utilizar 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.

Instrucciones de uso

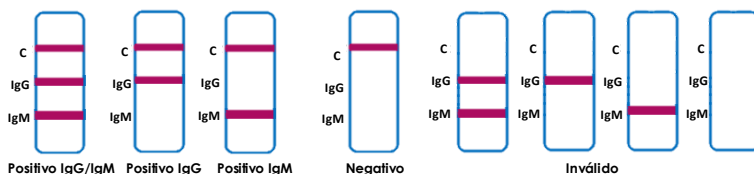
Permita que la prueba, muestra y solución de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Retire el cartucho de la bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Obtenga la muestra cómo se indicó en la sección 'Recolección de muestra'.
2. Deposite la cantidad en cada pozo 'S' del cartucho según el tipo de muestra y sección empleando el gotero indicado:
Sección anticuerpos (IgG e IgM)
- Usando el gotero de punta larga y delgada, presione y libere suavemente para recolectar la muestra (**suero o plasma**) hasta alcanzar la marca como se muestra en la imagen derecha. Coloque dicha cantidad recolectada (aproximadamente 5 µL). En caso de usar **sangre** repita el procedimiento dos veces para depositar aproximadamente 10 µL.
Sección antígeno (NS1)
- Usando el gotero grande coloque 2 gotas (aproximadamente 50 µL) de **suero o plasma**, en caso de usar **sangre** coloque 3 gotas (aproximadamente 75 µL).
3. Agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40 µL) a cada pozo 'S' del cartucho. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 15 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.
Nota: Debido a la susceptibilidad del buffer a ser contaminado por condiciones ambientales, se recomienda no usarlo 3 meses después de haber sido abierto.



Interpretación de resultados

Sección anticuerpos (IgG e IgM)



Positivo IgG/IgM

Positivo IgG

Positivo IgM

Negativo

Inválido

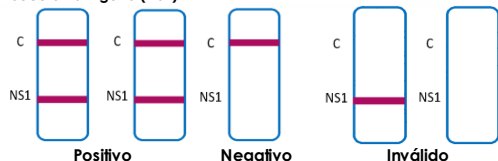
(Consulte la ilustración anterior)
IGM POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región IgM.
IGG POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región IgG.
IGG/IgM POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otras líneas de color en las regiones IgG e IgM.

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

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región C. No aparece ninguna línea de color en las regiones IgG e IgM.

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

Sección antígeno (NS1)



POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región NS1. Nota: La intensidad del color de la línea en la región NS1 puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región C. No aparece ninguna línea de color en la región NS1.

INVÁLIDO: La línea de la región C no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. 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 C confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

- Al igual que todas las pruebas rápidas, la **funcionalidad** del buffer incluido con esta prueba **puede verse afectado** por la contaminación ambiental, considere el tiempo establecido (3 meses después de ser abierto) para obtener resultados óptimos.
- Como con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse con otra información clínica disponible para el médico.
- Si el resultado de la prueba es negativo y la sintomatología persiste, se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos.
- La prueba rápida está diseñada para funcionar con niveles de hematocrito entre 25% y 65%. El análisis de muestras con un nivel de hematocrito diferente puede llevar a resultados erróneos.
- La prueba rápida ZIKA COMBO sola indica la presencia del antígeno NS1 y anticuerpos contra Zika presentes en la muestra y no deben utilizarse como único criterio para el diagnóstico de infección por Zika.
- Un resultado de prueba negativo para NS1 no excluye la posibilidad de exposición o infección por virus de Zika.
- La prueba rápida ZIKA COMBO puede dar resultados positivos a muestras positivas al virus del dengue.
- Un resultado negativo para el NS1 puede ocurrir si la cantidad de antígeno del Zika presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo o si el antígeno detectado no está presente durante la etapa de la enfermedad en la que se recolecta la muestra.
- Algunas muestras que contienen títulos inusualmente aquellos de anticuerpos heterófilos o el factor reumatoide puede afectar los resultados esperados en la prueba de antígeno NS1.
- En el inicio de la infección, las concentraciones de IgM anti-zika pueden estar por debajo de los niveles detectables.
- Para la infección secundaria se presenta una fracción baja de IgM anti-Zika y una fracción alta de IgG anti-Zika. La señal de IgM puede ser débil y la reacción cruzada en la región de región IgG puede aparecer.
- La presencia o ausencia continua de anticuerpos no determina el éxito o el fracaso de la terapia.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

NS1

Se utilizó la prueba rápida ZIKA COMBO para procesar un total de 60 muestras, de las cuales las cuales solo 13 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por el virus del Zika. Los resultados de las 60 muestras fueron confirmados por medio de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	Prueba comercial		Resultados totales
	Resultados		
	Positivo	Negativo	
Prueba rápida ZIKA COMBO (NS1)	Positivo	8	3
	Negativo	2	47
Resultados totales		10	50

Sensibilidad relativa: 80.00% (95% IC: 44.40%-97.50%)

Especificidad relativa: 98.68% (95% IC: 96.61%-99.50%)

Precisión relativa: 98.29% (95% IC: 96.07%-99.27%)

IC: Intervalo de Confianza

IgG

Se utilizó la prueba rápida ZIKA COMBO para procesar un total de 112 muestras, de las cuales las cuales 23 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por el virus del Zika. Los resultados de las 112 muestras fueron confirmados por medio de una prueba un kit comercial de Zika IgG EIA, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	Prueba comercial		Resultados totales
	Resultados		
	Positivo	Negativo	
Prueba rápida ZIKA COMBO (IgG)	Positivo	22	1
	Negativo	0	89
Resultados totales		22	90

Sensibilidad relativa: 99.99% (95% IC: 87.30%-100%)

Especificidad relativa: 98.90% (95% IC: 97.10%-99.80%)

Precisión relativa: 99.10% (95% IC: 95.10%-99.99%)

IC: Intervalo de Confianza

IgM

Se utilizó la prueba rápida ZIKA COMBO para procesar un total de 108 muestras, de las cuales las cuales 18 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por el virus del Zika. Los resultados de las 108 muestras fueron confirmados por medio de una prueba un kit comercial de Zika IgM EIA, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	Prueba comercial		Resultados totales
	Resultados		
	Positivo	Negativo	
Prueba rápida ZIKA COMBO (IgM)	Positivo	17	0
	Negativo	1	90
Resultados totales		18	90

Sensibilidad relativa: 94.40% (95% IC: 72.70%-99.99%)

Especificidad relativa: 99.99% (95% IC: 96.70%-100%)

Precisión relativa: 98.29% (95% IC: 96.07%-100%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 20 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, así como de un positivo alto y bajo de NS1. 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, así como de un positivo alto y bajo de NS1. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Sustancias interferentes

Se analizaron diferentes compuestos con la prueba rápida ZIKA COMBO, no se observaron interferencias con acetaminofén, ácido acetilsalicílico, ácido ascórbico, cafeína, ácido gálico, ácido oxálico, albumina, creatina y bilirrubina.

Reactividad cruzada

Se analizaron muestras positivas indicadas en la siguiente tabla con la prueba rápida ZIKA COMBO ha sido evaluada con muestras positivas a HAMA, HBsAb, HBeAg, HBcAb, sífilis, VIH, *H. pylori*, MONO, CVM, rubéola y TOXO. Ninguna presente reactividad cruzada positiva. **Muestras positivas al virus del dengue pueden resultar en un resultado positivo en la prueba ZIKA COMBO.**

Referencias

- [1]. Malone, Robert W.; Homan, Jane; Callahan, Michael V.; et al. (2 March 2016). "Zika Virus: Medical Countermeasure Development Challenges".
- [2]. Sikka, Veronica; Chattu, Vijay Kumar; Popli, Raaj K.; et al. (11 February 2016). "The emergence of Zika virus as a global health security threat: A review and a consensus statement of the INDUSEM Joint working Group (JWG)". *Journal of Global Infectious Diseases*.
- [3]. "Symptoms, Diagnosis, & Treatment". Zika virus. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. 3 March 2016.
- [4]. Rasmussen, Sonja A.; Jamieson, Denise J.; Honein, Margaret A.; Petersen, Lyle R. (13 April 2016). "Zika Virus and Birth Defects — Reviewing the Evidence for Causality". *New England Journal of Medicine*. 374: 1981–1987
- [5]. "CDC Concludes Zika Causes Microcephaly and Other Birth Defects". CDC. 13 April 2016.
- [6]. Organización Mundial de Salud. Virus de Zika

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño in vitro		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 – 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar
	Uso para investigación		