

Prueba rápida ZIKA COMBO

(sangre, suero y plasma)

ZKC 1023/01

REF DMZK01

Uso deseado

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

- **NS1 (Antígeno):** Una tira con un conjugado compuesto por nanopartículas y anticuerpos anti-NS1 e impresos anti-NS1 en la 'región NS1'.
- **IgM e IgG (Anticuerpos):** Una tira con un conjugado compuesto por nanopartículas cubiertas por antígenos NS1 y anticuerpos IgM e IgG impresos por separado 'región IgM y región IgG'.

Ambas secciones cuentan con un control conformado por anticuerpos anti-ratón impresos 'región C'. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' de cada sección del cartucho junto con el buffer, esta migrará a través de la membrana por acción capilar. Dependiendo la sección se presentará lo siguiente: Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de anticuerpos IgG/IgM o NS1 del virus de Zika por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en ninguna sección (IgG/IgM/NS1), esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de anticuerpos IgG, IgM o NS1 del virus de Zika por encima del límite de detección se formará una línea de color en la región (es) correspondiente (s) (IgG o IgM/ambas/NS1), 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 tira de IgM e IgG contiene nanopartículas recubiertas con antígenos del virus del zika, así como anticuerpos IgM anti-humano o IgG anti-humano impresos sobre la membrana. La tira NS1 contiene nanopartículas recubiertas con anticuerpos de detección anti-NS1 del virus del zika y anticuerpos de captura anti-NS1 del virus del zika recubiertos en la membrana.

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

Almacenamiento de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- 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.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben de almacenarse por debajo de los -20 °C. Solo la sangre total puede ser almacenada por dos días como máximo a 2-8 °C.
- Las muestras obtenidas por punción capilar deben procesarse inmediatamente.
- No congele las muestras de sangre a excepción del suero o plasma, recuerde evitar ciclos de congelación y descongelación repentinos y continuos.
- 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
- Instructivo de uso
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Gotero

Materiales requeridos, pero no incluidos:

- Temporizador

- Lanceta (punción capilar)
- Almohadilla con alcohol

Materiales opcionales:

- Centrifuga
- Tubo vacutainer

Obtención de muestra

- Sangre

Por punción capilar:

- A. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón, después seque el área.
- B. Masajee 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.
- 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.

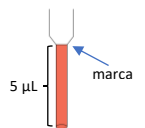
Instrucciones de uso

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 como se indicó en la sección 'obtención 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 (IgM e IgG)

- 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.

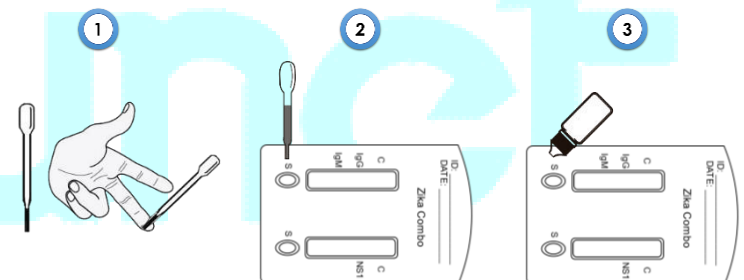


Sección antígeno (NS1)

- 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).

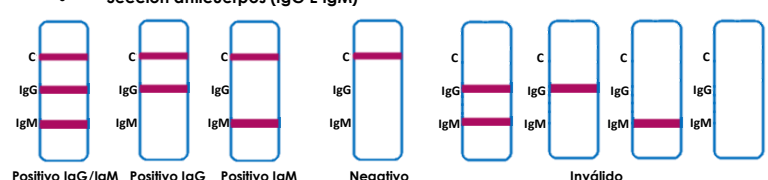
3. Agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40 µL) a cada pozo 'S' del cartucho.
4. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 15 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.

Nota: No se recomienda utilizar el buffer después de tres meses de haber sido abierto.



Interpretación de resultados

Sección anticuerpos (IgG e IgM)



(Consulte la ilustración anterior)

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

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

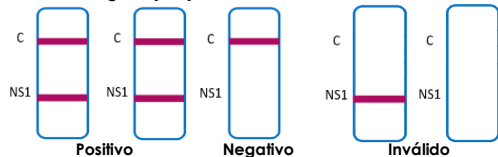
IgG/IgM POSITIVO: Aparece una línea de color en la región control (C) y dos líneas de color, una en la región IgG y otra en la región IgM.

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.

NEGATIVO: Aparece únicamente una línea de color en la región de control (C).

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.

Sección antígeno (NS1)



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región de prueba (T) y una línea de color en la región control (C). **Nota:** La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

Nota: Es posible obtener resultados positivos en muestras positivas al virus del dengue.

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

- La prueba rápida ZIKA COMBO (sangre/suero/plasma) puede dar **resultados positivos a muestras positivas al virus del dengue**.
- La prueba rápida ZIKA COMBO (sangre/suero/plasma) 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.
- 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.
- Si el síntoma persiste, mientras que el resultado de NS1 es negativo, se recomienda volver a muestrear al paciente unos días después o confirmar por otras técnicas como PCR o ELISA.
- Se recomienda que el hematocrito de las muestras se encuentre entre 25 a 65%.
- Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben interpretarse conjuntamente con otros procedimientos diagnósticos y hallazgos clínicos.
- En el caso 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.
- Los resultados de pacientes inmunosuprimidos deben ser interpretados con precaución.
- Como con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben ser interpretados junto con otra información clínica disponible para el médico

Características de rendimiento

Sensibilidad, Especificidad y Precisión (NS1)

Se utilizó la prueba rápida Zika COMBO (sangre, suero y plasma) para procesar un total de 60 muestras, de 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	PCR			Resultados totales
Prueba rápida ZIKA COMBO (NS1)	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	8	3	11
	Negativo	2	47	49
Resultados totales		10	50	60

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

Especificidad relativa: 94.00% (95% IC: 83.50%-98.70%)

Precisión relativa: 91.70% (95% IC: 81.60%-97.20%)

IC: Intervalo de Confianza

Sensibilidad, Especificidad y Precisión (IgG e IgM)

Se utilizó la prueba rápida ZIKA COMBO (sangre, suero y plasma) para procesar un total de 112 muestras, de las cuales solo 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		EIA		Resultados
Prueba rápida ZIKA COMBO (IgG)	Resultados	Positivo	Negativo	totales
	Positivo	22	1	23
	Negativo	0	89	89
Resultados totales		22	90	112

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

Se utilizó la prueba rápida ZIKA COMBO (sangre, suero y plasma) para procesar un total de 108 muestras, de las cuales solo 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		EIA		Resultados totales
Prueba rápida ZIKA COMBO (IgM)	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	17	0	17
	Negativo	1	90	91
Resultados totales		18	90	108

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

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

Precisión relativa: 99.10% (95% IC: 94.90%-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.

Reactividad cruzada

Se analizaron muestras positivas indicadas en la siguiente tabla con la prueba rápida Zika COMBO (sangre, suero y plasma) 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.**

Sustancias de interferencia

Se analizaron diferentes compuestos con la prueba rápida Zika COMBO (sangre, suero y plasma), no se observaron interferencias con acetaminofén, ácido acetilsalicílico, ácido ascórbico, cafeína, ácido gentísico, ácido oxálico, albumina, creatina y bilirrubina.

Referencias

- Malone, Robert W.; Homan, Jane; Callahan, Michael V.; et al. (2 March 2016). "Zika Virus: Medical Countermeasure Development Challenges".
- 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.
- "Symptoms, Diagnosis, & Treatment". Zika virus. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. 3 March 2016.
- 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
- "CDC Concludes Zika Causes Microcephaly and Other Birth Defects".CDC. 13 April 2016.
- Organización Mundial de Salud. Virus de Zika.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 15 – 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
	No reutilizar