

OnSite® Chikungunya IgM Combo Rapid Test

REF R0066C C E
Instrucciones de Uso

USO

El OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos IgM de Chikungunya (CHIK) en suero, plasma o sangre total humanos. Este dispositivo está diseñado para ser usado por profesionales como instrumento de pesquiza y para el apoyo al diagnóstico de infección con virus Chikungunya.

Se deben tener en cuenta otros resultados clínicos y la opinión del personal de salud al interpretar los resultados de esta prueba. Debe considerarse el uso de métodos diagnóstico alternativos para confirmar los resultados de este dispositivo.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El Chikungunya es una rara infección viral que se transmite por la picadura de un mosquito *Aedes aegypti* infectado. Se caracteriza por aparición de fiebre, eritema, dolor agudo en las articulaciones (artralgias) que usualmente persiste por tres a siete días. El nombre deriva de un vocablo Makonde que significa "encorvado" haciendo referencia a la postura adoptada como resultado de los síntomas artríticos de la enfermedad. Se desarrolla durante las estaciones de lluvia en áreas tropicales fundamentalmente en África, Sur-este de Asia, Sur de India y Pakistán^{1,2}. Sin embargo, durante la pasada década también ha aparecido en el Sur del Pacífico, sur de Europa y América Central³.

Usualmente los síntomas son indistinguibles de aquellos observados durante la fiebre del dengue, aunque a diferencia de este las manifestaciones hemorrágicas son relativamente raras y la enfermedad es febril y autolimitada. Incluso se han descrito casos de infección doble con virus del Dengue y Chikungunya en India⁴. Por tanto es muy importante distinguir clínicamente las infecciones por Dengue y por Chikungunya.

La enfermedad Chikungunya es diagnosticada mediante análisis serológicos y por aislamiento viral a partir de ratones o de cultivos de tejidos. La detección de IgM por inmunoensayo es el método de laboratorio más práctico⁵.

El OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test detecta anticuerpos IgM de Chikungunya en suero, plasma o sangre total. El ensayo puede ejecutarse en 10 minutos por parte de personal mínimamente entrenado y sin necesidad de equipamiento de laboratorio.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La tira en el casete consiste en: 1) una almohadilla color que contiene antígenos recombinantes de CHIK conjugados a oro coloidal (conjugados CHIK) y un anticuerpo control conjugado a oro coloidal y 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de ensayo (línea T) y una línea control (línea C). La línea T está pre-cubierta con anticuerpos anti-IgM humana y la línea C esta pre-cubierta con un anticuerpo control.

Cuando se administra un volumen adecuado de muestra al pozo de muestra, esta migra por acción capilar a través del casete. Si anticuerpos IgM de Chikungunya, está presente en la muestra, se unirá a los conjugados CHIK. El inmunocomplejo es entonces capturado en la membrana por los anticuerpos anti-IgM humana pre-cubiertos y aparece la línea T, de color, indicando un resultado positivo a anticuerpos IgM de Chikungunya.

La ausencia de la línea T sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (línea C) que, independientemente del color de la línea de ensayo, debe desarrollar un color. Si la línea C no aparece, el resultado no es válido y la muestra debe ser evaluada con otro dispositivo.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

- Bolsas de aluminio selladas individualmente que contienen:
 - Un dispositivo o casete
 - Un desecante
- Tubos capilares de 5 µL
- Diluyente de muestra (REF SB-R0066, 5 mL/botella)
- Instrucciones de Uso

MATERIALES QUE PUEDEN SER REQUERIDOS PERO NO SON SUMINISTRADOS

- Control Positivo
- Control Negativo

MATERIALES REQUERIDOS Y NO SUMINISTRADOS

- Reloj, cronómetro dispositivo para medir el tiempo

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para Uso Diagnóstico In Vitro

- Lea estas Instrucciones de Uso completamente antes de la realización de la prueba. Se pueden generar resultados erróneos si no se siguen las instrucciones correctamente.
- No abra la bolsa sellada hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atemper los reactivos a temperatura ambiente (15-30°C) antes de usarlos.
- No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
- No utilice sangre hemolizada para la prueba.
- Usar ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave bien sus manos después de realizar la prueba.
- Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, el VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.
- No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.

- Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
- Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma que manipula las muestras de los pacientes.
- Los resultados del ensayo deben leerse a los 10-15 minutos después de adicionar la muestra o el control a la tira. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de los 10-15 minutos debe ser considerada no válida y la prueba debe repetirse.
- No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, p.ej. con ventiladores o aire acondicionado fuerte.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. Los dispositivos sellados que no se utilicen se deben almacenar entre 2-30°C. Si el dispositivo se almacena entre 2°C y 8°C, asegúrese de que sea llevado a 15-30°C antes de abrir su bolsa. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. No congele el dispositivo ni lo exponga a temperaturas superiores a los 30°C.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúelos usando procedimientos estándares de bioseguridad.

Plasma/Suero

- Recolecte la muestra por punción de la vena en un tubo con anticoagulante que contenga EDTA, citrato o heparina respectivamente para el plasma o en un tubo de colección que no contenga anticoagulantes para el suero.
- Para preparar la muestra de plasma, centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el plasma en un nuevo tubo previamente etiquetado.
- Para preparar la muestra de suero, deje la sangre coagular, después centrifugue las muestras recolectadas y cuidadosamente transfiera el suero en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Evalúe las muestras lo más pronto posible después de su colecta. Almacene las muestras de 2-8°C, si no van a ser evaluados inmediatamente. Las muestras pueden ser almacenadas a 2-8°C por hasta 5 días. Las muestras deben congelarse a -20°C si se requieren períodos de almacenamientos más prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación. Antes del ensayo, lleve lentamente las muestras congeladas a temperatura ambiente y mézclelas con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles deben ser clarificadas por centrifugación antes de la prueba.

No utilice muestras que muestren altos niveles de lipemia, hemólisis o turbidez para evitar interferencias en los resultados.

Sangre Total

- Las muestras de sangre total pueden ser obtenidas por punción de la punta del dedo o por extracción de la vena. Recolecte la muestra de sangre en un tubo que contenga EDTA, citrato o heparina. No use sangre hemolizada.

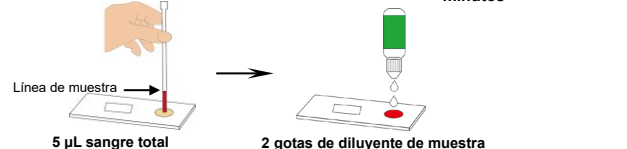
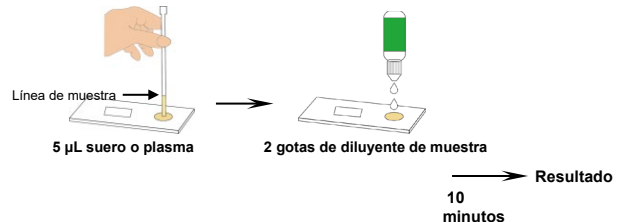
Las muestras de sangre total deben ser almacenadas en refrigeración (2-8°C) si no van a ser evaluadas inmediatamente, pero deben usarse dentro de las 24 horas desde su recolección.

PROCEDIMIENTO

- Si las muestras o los componentes de la prueba han sido refrigerados o congelados, líveles a temperatura ambiente. Una vez la muestra esté a temperatura ambiente, mezcle bien antes de ejecutar el ensayo.
- Cuando esté listo para realizar la prueba, abra la bolsa y retire el dispositivo. Coloque el dispositivo en una superficie plana y limpia.
- Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación de la muestra.
- Llene el tubo capilar con la muestra (aproximadamente 5 µL) que no exceda la línea de la muestra como se muestra en las imágenes a continuación. **Para una mejor precisión, transfiera la muestra usando una pipeta capaz de entregar un volumen de 5 µL.**

Sosteniendo el tubo capilar verticalmente, dispense toda la muestra en el centro del pozo de muestra cuidando que no se formen burbujas de aire.

Inmediatamente después añada 2 gotas (cerca de 60-80 µL) de diluyente de muestra al pozo de muestra con la botella en posición vertical.



- Empiece el cronómetro.

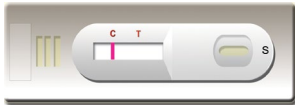
- Lea los resultados en 10 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles en 1 minuto. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 15 minutos solamente. **Cualquier resultado interpretado fuera de la ventana de los 10-15 minutos debe ser considerado inválido y debe ser repetido. Deseche los dispositivos de acuerdo a las regulaciones locales.**

CONTROL DE CALIDAD

- Control Interno:** Este ensayo contiene un control interno, la línea C. La línea C aparece tras añadir la muestra y su diluyente. Si la línea C no desarrolla color, revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo dispositivo.
- Control Externo:** Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar un adecuado desempeño de la prueba particularmente bajo las siguientes circunstancias:
 - El dispositivo es usado por un nuevo operario, antes de ejecutar los especímenes.
 - Se está usando un nuevo lote de reactivos.
 - Se está usando un nuevo envío de reactivos.
 - La temperatura de almacenamiento ha estado fuera de 2-30°C.
 - La temperatura del área de ensayo está fuera de 15-30°C.
 - Verificar frecuencias anormales de resultados positivos o negativos.
 - Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- RESULTADO NEGATIVO:** Si solo aparece la línea C, la ausencia de color en la línea de ensayo indica que anticuerpos IgM de Chikungunya no están detectables en la muestra. El resultado es negativo o no-reactivo.



- RESULTADO POSITIVO:** Si aparecen las líneas C y T, la prueba indica la presencia de anticuerpos IgM de Chikungunya en la muestra. El resultado es positivo o reactivo.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos alternativos y en base a la evidencia clínica antes de emitir un diagnóstico.

- RESULTADO INVÁLIDO:** Si la línea C no aparece, el ensayo no es válido independientemente de la presencia o no de la línea T como se indica más abajo. Repita el ensayo con un nuevo dispositivo.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

1. Desempeño clínico

Se recolectó un total de 523 muestras de sujetos susceptibles y sujetos sanos normales en áreas endémicas y se analizaron mediante la prueba rápida El OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test y mediante una prueba ELISA comercial. La comparación para todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla.

ELISA de Referencia	El OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	66	7	73
Negativo	9	441	450
Total	75	448	523

Sensibilidad relativa: 90.4% (95% CI: 81.5-95.3%)

Especificidad relativa: 98.0% (95% CI: 96.2-98.9%)

Acuerdo general: 96.9% (95% CI: 95.1-98.1%)

2. Reactividad Cruzada

No se observaron falsos positivos en paneles relacionados en 10-40 muestras de cada una de las siguientes enfermedades o condiciones:

Dengue	VHA	VHB	VHC
VIH	<i>H. pylori</i>	Malaria	<i>T. pallidum</i>
TB	Zika	ANA	HAMA
Mujeres embarazadas	FR (hasta 8400 UI/mL)		

3. Interferencia

Algunas sustancias de uso común (como los analgésicos, antipiréticos y componentes sanguíneos) pueden afectar los resultados del OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test. Esto se estudió agregando estas sustancias a especímenes negativos, positivos débiles y positivos medios, respectivamente. Los resultados demuestran que a las concentraciones estudiadas estas sustancias no afectan los resultados del OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test.

Lista de sustancias potencialmente interferentes y concentraciones evaluadas:

1. Acetaminofeno	20 mg/dL	7. Heparina	3000 U/L
2. Ácido ascórbico	20 mg/dL	8. IgG Humana	1000 mg/dL
3. Bilirrubina	20 mg/dL	9. Glucosa	55 mmol/L
4. Creatinina	442 µmol/L	10. Ácido salicílico	4.34 mmol/L
5. EDTA	3.4 µmol/L	11. Citrato sódico	3.8%
6. Hemoglobina	2 g/L		

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Las instrucciones dadas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los Resultados" deben seguirse cuidadosamente al evaluar la presencia de anticuerpos IgM de Chikungunya en suero, plasma o sangre total de sujetos individuales. La falta de seguir el procedimiento puede dar resultados inexactos.
- El OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test está limitada a la detección cualitativa de anti-CHIK IgM en suero, plasma o sangre total humanos. La intensidad del color obtenido en las líneas de ensayo no tiene correlación lineal con la concentración de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado negativo o no-reactivo indica la ausencia de niveles detectables de anticuerpos IgM de Chikungunya. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la

- posibilidad de exposición o infección con Chikungunya.
- Un resultado negativo o no-reactivo puede obtenerse si la cantidad de anticuerpos IgM de Chikungunya presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo o si estos anticuerpos no están presentes durante la etapa de la enfermedad en que la muestra es colectada.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y el resultado del OnSite Chikungunya IgM Combo Rapid Test es negativo o no-reactivo, es recomendado evaluar al paciente usando un método alternativo.
- Algunas muestras que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
- Los resultados obtenidos con este ensayo deben ser interpretados en conjunto con otros procedimientos diagnósticos y resultados clínicos.

REFERENCIAS

- Shah KV, Gibbs CJ Jr, Banerjee G. Virological investigation of the epidemic of haemorrhagic fever in Calcutta: isolation of three strains of Chikungunya virus. Indian J Med Res 1964; 52 :676-83.
- Powers AM, Brault AC, Tesh RB, Weaver SC. Re-emergence of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. J Gen Virol 2000;81:471-9.
- Horwood PF, Buchy P. Chikungunya. Rev Sci Tech. 2015 Aug;34(2):479-89.
- Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. Science 1967;157:1307-8.
- Thein S, La Linn M, Aaskov J, Aung MM, Aye M, Zaw A, Myint A. Development of asimple indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of immunoglobulinM antibody in serum from patients Following an outbreak of chikungunya virus infection in Yangon, Myanmar. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1992 86:438-42.

Índice de Símbolos CE

	Consulte las instrucciones de uso		Solo para uso diagnóstico in vitro		Fecha de vencimiento
	Número de catálogo		Número de lote		Ensayos por kit
	Almacenar entre 2-30°C		Representante autorizado		No reutilizar
	Fabricante		Fecha de manufactura		

CTK Biotech, Inc.
 13855 Stowe Drive
 Poway, CA 92064, USA
 Tel: 858-457-8698
 Fax: 858-535-1739
 E-mail: info@ctkbiotech.com

MDSS GmbH
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover, Germany

PI-R0066C-Spanish Rev E2.0
 Fecha de publicación: 2022-04-05
 Versión en español

Solo para exportación. No para ser comercializado en los EUA