

1. Uso previsto

El test NADAL® Chikungunya IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de IgM anti-Chikungunya en muestras humanas de suero, plasma o sangre completa. Está diseñado para su uso como test de detección y para ayudar en el diagnóstico de una infección por Chikungunya. El resultado de este test tiene solo un carácter preliminar. Por esta razón, se deben utilizar otros test de referencia, como ELISA o PCR, para confirmar una infección por Chikungunya.

2. Introducción y significado clínico

El Chikungunya (CHIKV) es un virus ARN monocatenario positivo que pertenece, junto con el *Alphavirus*, a la familia *Tagaviridae* y que fue identificado por primera vez en 1953. La fiebre de chikungunya (CHIK) se transmite a las personas por medio de la picadura de varios tipos de mosquitos, como los *Ae. aegypti*, *Ae. africanus*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. furcifer* y *Ae. Taylori*, pero sobre todo, por la picadura del mosquito tigre asiático (*Ae. albopictus*). La CHIKV ha causado brotes en áreas del continente africano, como el este (Tanzania y Uganda), la zona austral (Zimbabue y Sudáfrica), el oeste (Senegal y Nigeria) y el área central (República Centroafricana y República Democrática del Congo).

En Asia, se han registrado brotes de Chikungunya en la India, Sri Lanka, Myanmar, Tailandia, Indonesia, las Filipinas, Camboya, Vietnam, Hong Kong y Malasia. Los síntomas incluyen la aparición repentina de fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, dolor en las articulaciones, con o sin inflamación, dolor lumbar y erupción similar a la del dengue. Ambas enfermedades se transmiten principalmente por la misma especie de mosquitos - *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Se han registrado brotes mixtos de chikungunya con casos esporádicos de dengue en el estado de Andhra Pradesh, India. Sin embargo, a diferencia del dengue, no producen síndromes hemorrágicos o de shock. Por esta razón, es extremadamente beneficioso poder distinguir entre una infección por CHIKV y una por Dengue, particularmente en áreas donde la infección por Dengue es endémica o epidémica. El test NADAL® Chikungunya IgM utiliza antígenos recombinantes que se encuentran en las proteínas estructurales. El test detecta IgM anti-CHIKV en muestras de suero, plasma o sangre completa después de 15 minutos. El ensayo puede ser llevado a cabo por personal sin ningún, o con un mínimo, entrenamiento y sin necesidad de un equipo de laboratorio.

3. Principio del test

El test NADAL® Chikungunya IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El casete de test está compuesto por: 1) una almohadilla de color burdeos con conjugado de antígenos de CHIKV con oro coloidal (conjugados de CHIKV) e IgG de conejo con oro, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa con una región de test (T) y una región de control (C). El IgM anti-humano recubre la región de test (T), y el IgG anti-conejo de cabra recubre la zona de control (C).

Cuando se añade un volumen adecuado de muestra al pocillo correspondiente del casete (S), la muestra migra por acción capilar a lo largo de la membrana. Si en las muestras hay CHIKV presente, se unirán a los conjugados de CHIKV. El

inmunocomplejo queda capturado en la membrana por el IgM anti-humano, formando una línea de test de color burdeos (T), indicando un resultado de test positivo para IgM CHIKV. La ausencia de la línea de test (T) sugiere un resultado negativo.

El test contiene una tira interna de control (C) que debe mostrar una línea de color burdeos del inmunocomplejo IgG anti-conejo de cabra / IgG de conejo conjugado con oro, independientemente de que aparezca o no la línea de test (T). De otro modo, el resultado no sería válido y se tendría que repetir la prueba con otro casete de test.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 casetes de test NADAL® Chikungunya IgM (con pipetas desechables incluidas).
- 1 búfer "Buffer"
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Recipiente para recolectar la muestra
- Lancetas (solo para sangre completa por punción digital)
- Centrifugadora (para suero/plasma)
- Tubos capilares desechables heparinizados y goteros dispensadores (solo para sangre completa obtenida por punción digital).

6. Almacenamiento y conservación

Todos los reactivos están listos para su uso tal como se suministran. Almacene los test cerrados a 2-30°C y asegúrese de llevarlos a temperatura ambiente antes de abrirlos. El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No congele los dispositivos ni los exponga a temperaturas por encima de 30°C.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Utilice ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de

agentes patógenos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).

- La humedad y la temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® Chikungunya IgM se puede realizar utilizando sangre completa (obtenida por punción venosa o digital), suero o plasma.

Para muestras de sangre completa obtenida por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua caliente o límpiela con un hisopo con alcohol. Déjela secar.
- Realice un suave masaje en la mano sin tocar el lugar de punción, frotándola en dirección hacia la punta del dedo medio o anular.
- Realice una punción en la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
- Frote la mano desde la palma hasta el dedo para obtener una gota de sangre en la zona de la punción.

Para evitar la hemólisis, separe el suero o plasma de la sangre por centrifugación lo antes posible. Utilice solo muestras no hemolizadas.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados. Las muestras de suero o plasma se pueden almacenar a 2-8°C hasta 3 días. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe congelarlas a -20°C. La sangre completa recolectada por punción venosa se debe almacenar a 2-8°C siempre que el test se realice en los 2 días siguientes a la recolección. No congele las muestras de sangre completa. Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar la prueba inmediatamente. Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Si se han congelado las muestras, debe descongelarlas y mezclarlas bien antes de realizar la prueba. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado. Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones estatutarias para el transporte de agentes etiológicos.

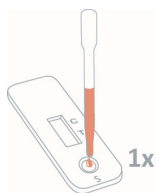
9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, los reactivos y/o controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

1. Retire el casete de test de su envase y utilícelo lo más pronto posible. Para obtener mejores resultados, realice el ensayo antes de una hora.
2. Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y plana.

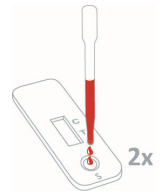
3. a) Para muestras de suero o plasma:

Sujetando el gotero verticalmente, añada 1 gota (aprox. 30 µL) de suero o plasma al pocillo para la muestra del casete de test (S).



b) Para muestras de sangre obtenida por punción venosa:

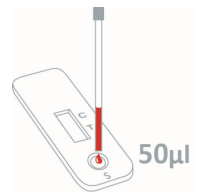
Sujetando el gotero verticalmente, añada 2 gotas (aprox. 50 µL) de suero o plasma al pocillo para la muestra del casete de test (S).



c) Para las muestras de sangre completa obtenida por punción digital:

I. Mediante un tubo capilar:

Coloque el extremo del tubo capilar sobre la muestra de sangre para llenarlo con aproximadamente 50 µL. Evite la formación de burbujas. Coloque el gotero dispensador en el extremo del tubo capilar, y a continuación, apriete el gotero para dispensar la muestra de sangre completa en el pocillo correspondiente (S) del casete de test.



II. Mediante gotas colgantes:

Posicione el dedo del paciente de forma que la gota de sangre caiga exactamente sobre el pocillo para la muestra (S) del casete de test. Deje caer 2 gotas colgantes (aprox. 50 µL) de sangre completa de la punta del dedo en el centro del pocillo para la muestra (S) del casete de test o mueva el dedo del paciente de forma que la gota colgante toque el centro del pocillo (S). Evite tocar directamente con el dedo el pocillo para la muestra (S).



4. Añada 1 gota de búfer (aprox. 40 µL) al pocillo para la muestra (S). Active el cronómetro.

5. Espere a que aparezca la línea/s coloreada/s. Lea el resultado del test a los 15 minutos. No interprete los resultados después de 15 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una de ellas aparece en el área de control (C) y la otra en el área de test (T). El resultado indica la presencia de IgM anti-CHIKV en la muestra.



Nota: los resultados positivos se deben confirmar con otros métodos de test y considerando todos los hallazgos clínicos, antes de establecer un diagnóstico definitivo.

Negativo

Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en el área de la línea de test (T). El resultado del test indica que no hay IgM anti-CHIKV en la muestra.



No válido

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento. Se trata de la línea coloreada que aparece en la región de control (C). Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BLP)* recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Chikungunya IgM detecta la presencia de anticuerpos IgM contra el virus de Chikungunya en las muestras y no se debe utilizar como único criterio para el diagnóstico de chikungunya.
- Al igual que con otros test, un diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de una sola prueba, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Los resultados negativos no excluyen la posibilidad de una infección por Chikungunya.

13. Características del rendimiento

Se analizaron 127 muestras positivas y 296 muestras negativas utilizando el test NADAL® Chikungunya IgM y un ELISA de captura de CHIKV IgM disponible comercialmente.

En la siguiente tabla se muestran los resultados.

Test NADAL® Chikungunya IgM	ELISA de captura de IgM CHIKV			Total
	+	-	Total	
+	123	4	127	
-	4	292	296	
Total	127	296	423	

Sensibilidad relativa: 96,9%

Especificidad relativa: 98,6%

Concordancia general: 98,1%

14. Referencias

1. 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.
2. 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

3. Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. *Science* 1967;157:1307-8.
4. Thein S, La Linn M, Aaskov J, Aung MM, Aye M, Zaw A, Myint A. Development of a simple indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of immunoglobulin M 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.

Rev. 0, 2015-11-16 MP