

# Prueba Rápida **OnSite**™ Leptospira IgG/IgM Combo

**REF R0101C**

## USO

La Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo es un inmunoensayo de flujo lateral que permite la detección y la diferenciación simultáneas de anticuerpos IgG e IgM a *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) en suero, plasma o sangre total humanos. Este dispositivo está diseñado para ser usado como instrumento de pesquijaje y para el apoyo al diagnóstico de infección con *L. interrogans*.

Cualquier uso o interpretación del resultado de esta prueba preliminar debe tomar en cuenta otros resultados clínicos y el criterio profesional de los proveedores de atención de la salud. Debe considerarse el uso de métodos de ensayo alternativos para confirmar el resultado obtenido por este dispositivo.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La leptospirosis se produce en todo el mundo y es un problema de salud leve a severo para los seres humanos y los animales, especialmente en zonas de clima cálido y húmedo. Los roedores y una gran variedad de mamíferos domesticados son los reservorios naturales para la leptospirosis. La infección humana es causada por *L. interrogans*, un miembro patógeno del género de *Leptospira*<sup>1,2</sup>. La infección se transmite a través de la orina del animal hospedero.

Después de la infección, aparecen las leptospirosis en la sangre y luego de 4 a 7 días se eliminan después de la producción de anticuerpos anti-*L. interrogans*. Estos anticuerpos se pueden detectar a los 6 a 10 días de la enfermedad y alcanzan su máximo en 3 a 4 semanas para luego disminuir, aunque pueden ser detectados varios años después de la infección<sup>3</sup>. La anti-*L. interrogans* IgM es detectable durante la primera semana de la infección, permitiendo un diagnóstico e intervención terapéutica tempranos, en el momento en que la terapia es más efectiva<sup>3</sup>. Los anticuerpos de clase IgG aparecen más tarde en la infección y pueden persistir por años.

El método más común es la detección serológica de anticuerpos anti-*L. interrogans* (IgG e IgM). Los ensayos disponibles incluyen: 1) El ensayo de aglutinación por microscopía (MAT)<sup>4</sup>; 2) el ELISA<sup>5,6</sup>; y 3) los ensayos de anticuerpos de fluorescencia indirecta (IFATs)<sup>6</sup>. El aislamiento de leptospirosis a partir de cultivos de muestras de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo son medios efectivos para confirmar el diagnóstico. Sin embargo, los métodos de cultivo solo pueden emplearse en estados iniciales de la infección durante las 1<sup>ra</sup> y 2<sup>da</sup> semana después de la exposición y primera semana de la enfermedad<sup>3</sup>. Todos los métodos mencionados anteriormente requieren equipamiento sofisticado y personal bien entrenado.

La Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo es una prueba serológica sencilla que utiliza antígenos de *L. interrogans* para detectar y discriminar anticuerpos IgG e IgM contra estos microorganismos. La prueba puede llevarse a cabo en 15 a 20 minutos por personal no experto o con conocimientos mínimos, sin equipo de laboratorio complicado.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. Los casetes de prueba contienen: 1) una almohadilla de conjugado de color rojo tinto con antígenos recombinantes de *L. interrogans* conjugados con oro coloidal (conjugados Leptospira) y un anticuerpo control conjugado a oro coloidal, 2) una tira de nitrocelulosa con dos líneas de prueba (línea M y línea G) y una línea control (línea C). La línea M está pre-recubierta con un monoclonal anti IgM humana para la detección de anti-*L. interrogans* IgM, la línea G está pre-recubierta con un monoclonal anti IgG humana para la detección de anti-*L. interrogans* IgG y la línea C está pre-recubierta con anticuerpos control.

Cuando un volumen adecuado de muestra de prueba se dispensa en la cavidad para muestras del casete, esta migra por acción capilar a través del casete. Si hay presencia de anti-*L. interrogans* IgM en la muestra, estas se unen a los conjugados de leptospirosis. Luego el inmunocomplejo es capturado en la membrana por el anticuerpo anti-IgM humana pre-recubierto, formando una línea M de color rojo tinto, indicando un resultado positivo a la presencia de anti-*L. interrogans* IgM. Si hay presencia de anti-*L. interrogans* IgG en la muestra, estas se unen a los conjugados de leptospirosis. Luego el inmunocomplejo es capturado sobre la membrana por los reactivos pre-recubiertos, formando una línea G de color rojo tinto, indicando un resultado positivo a la presencia de anti-*L. interrogans* IgG.

La ausencia de líneas de prueba (M y G) sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (línea C) el cual debe exhibir una línea de color rojo tinto sin importar el color que se genere en cualquiera de las líneas de prueba. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.



## REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

- Bolsas de aluminio selladas que contiene:
  - Un dispositivo casete
  - Un desecante
- Tubos capilares de 5 µL
- Diluyente de muestra (REF SB-R0101, 5 mL/botella)
- Un inserto (Instrucciones de uso)

## MATERIALES QUE PUEDEN SER REQUERIDOS Y NO SON SUMINISTRADOS

- Control Positivo
- Control Negativo

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRADOS

- Reloj o cronómetro
- Dispositivo de punción para la extracción de sangre total

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

### Para Uso de Diagnóstico *in Vitro*

- Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos.
- No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atemperere los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos.
- No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este

- kit.
- No utilice muestras de sangre hemolizadas para ensayo.
- Utilice ropa protectora y guantes desechables durante la manipulación de los reactivos del kit y muestras clínicas. Lávese bien las manos luego 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 como a las muestras de los pacientes.
- Los resultados de las pruebas deben ser leídos entre 15-20 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de la ventana de 15-20 minutos debe ser considerada no válida y debe repetirse.
- No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

## PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2-30°C. Si se almacena de 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleve a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

## RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACIÓN

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos 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 almacenamiento 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

- Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados. Una vez descongelada, mezcle bien la muestra antes de realizar el ensayo.
- Una vez se esté listo para llevar a cabo el ensayo, abra la bolsa por la muesca y retire el dispositivo. Coloque el dispositivo de prueba en una superficie limpia y plana.
- Asegúrese de etiquetar el dispositivo con el número de identificación de la muestra.
- Tome la muestra con el capilar de 5 µL sin exceder la línea como se muestra en la figura. El volumen de muestra es aproximadamente 5 µL. **Para mayor precisión transfiera la muestra usando una pipeta capaz de dispensar 5 µL.**

Sosteniendo el capilar verticalmente, dispense todo el volumen de la muestra en el centro del pozo de muestra (**Pozo S**) asegurándose de no hacer burbujas. Adicione inmediatamente 2 gotas (aproximadamente 60-80 µL) de diluyente de muestra al pozo del tampón (**Pozo B**) con la botella en forma vertical invertida.



- 5: Cuente el tiempo.
- 6: Los resultados pueden leerse a los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1min. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 min. **Sin embargo, cualquier interpretación de los resultados fuera de los 15-20 min debe ser**

considerada inválida y la prueba debe repetirse. Después de interpretar los resultados, deseche el dispositivo según las normas locales.

**CONTROL DE CALIDAD**

- Control interno:** Esta prueba contiene una característica de control interno, la línea C. La línea C se genera luego de adicionar la muestra y el diluyente. De otro modo, revise en su totalidad el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.
- Control externo:** Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, con el fin de asegurar un adecuado rendimiento de la prueba, particularmente bajo las siguientes circunstancias:
  - Un nuevo operador utiliza el kit, antes de realizar el análisis de las muestras.
  - Se usa un nuevo kit de ensayo.
  - Se usa un nuevo envío de kits.
  - La temperatura usada durante el almacenamiento del kit se encuentra fuera de 2°C a 30°C.
  - La temperatura de la zona de ensayo se encuentra fuera de 15°C a 30°C.
  - Al verificar una frecuencia superior a la prevista de resultados positivos o negativos.
  - Al investigar la causa de resultados inválidos repetitivos.

**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

- RESULTADO NEGATIVO:** Si sólo aparece la línea C, la ausencia de color en cualquiera de las líneas de prueba (M y G) indica que no se han detectado anticuerpos anti-*L. interrogans*. En este caso el resultado es negativo o no-reactivo.



- RESULTADO POSITIVO:**
  - Si además de presentarse la línea C, solo se genera la línea M, la prueba indica la presencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* IgM. El resultado es positivo o reactivo a anti-*L. interrogans* IgM.



- Si además de presentarse la línea C, solo se genera la línea G, la prueba indica la presencia de anticuerpos anti-*L. interrogans* IgG. El resultado es positivo o reactivo a anti-*L. interrogans* IgG.



- Además de presentarse la línea C, se generan tanto la línea M como la línea G, la prueba indica la presencia de ambos anticuerpos anti-*L. interrogans* IgG e IgM. El resultado es positivo a anti-*L. interrogans* IgG e IgM.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos de análisis alternativos y según los hallazgos clínicos antes de tomar una determinación en el diagnóstico.

- RESULTADO INVALIDADO:** Si no se genera la línea C, el ensayo no es válido sin importar que se haya creado color en cualquiera de las líneas de ensayo como se muestra a continuación. La prueba se debe repetir con un nuevo dispositivo.



**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO**

- Exactitud de la detección**  
Se ensayaron muestras tomadas de pacientes sintomáticos y donantes sanos con la Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo. Los resultados de la Prueba mostraron un 100% de especificidad y sensibilidad relativas respecto a un ensayo comercial de referencia.
- Reactividad Cruzada**  
Se ensayaron muestras de pacientes con otras enfermedades infecciosas usando la Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo de acuerdo al procedimiento estándar. Ninguna de las siguientes muestras (n=3-10) tuvo reactividad cruzada con la Prueba.
 

|                 |     |        |                        |                    |
|-----------------|-----|--------|------------------------|--------------------|
| VHA             | VHB | VHC    | VHE                    | <i>H. pylori</i>   |
| hCG             | VIH | Dengue | TB                     | <i>T. pallidum</i> |
| Fiebre Tifoidea | ANA | HAMA   | FR (hasta 8,400 UI/mL) |                    |
- Interferencia**  
Sustancias comunes (como los analgésicos, antipiréticos y componentes de la sangre) pudieran afectar el rendimiento de la Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo. Esto fue estudiado mediante la adición de estas sustancias en controles estándar negativos y positivos. Los resultados demuestran que estas sustancias no afectan el desempeño de la Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo a las concentraciones ensayadas.

Lista de sustancias potencialmente interferentes y concentraciones ensayadas:

|                |            |                      |             |
|----------------|------------|----------------------|-------------|
| 1. Albúmina    | 60 g/L     | 6. Hemoglobina       | 2 g/L       |
| 2. Bilirrubina | 20 mg/dL   | 7. Heparina          | 3,000 U/L   |
| 3. Creatinina  | 442 µmol/L | 8. IgG Humana        | 1000 mg/dL  |
| 4. EDTA        | 3.4 µmol/L | 9. Acido Salicílico  | 4.34 mmol/L |
| 5. Glucosa     | 55 mmol/L  | 10. Citrato de Sodio | 3.8%        |

**LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

- El procedimiento de análisis y la interpretación de resultados del ensayo deben ser seguidos muy de cerca cuando se evaluó la presencia de anticuerpos para *L. interrogans* patógenos en el suero, plasma o sangre de sujetos individuales. Si no se sigue el procedimiento pueden generarse resultados inexactos.
- La Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo se limita a la detección cualitativa de anticuerpos para *L. interrogans* en suero, plasma o sangre humanos. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación lineal con la concentración de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado negativo o no-reactivo para un individuo indica ausencia de anticuerpos anti-*L. interrogans*. Sin embargo, un resultado negativo o no-reactivo no excluye la posibilidad de exposición a *L. interrogans*.
- Puede presentarse un resultado negativo o no-reactivo si la cantidad de anticuerpos *L. interrogans* presentes en la muestra se encuentra por debajo de los límites de detección del ensayo, o los anticuerpos detectados no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la cual se recoge una muestra.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y el resultado de la Prueba Rápida *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo 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 de factor reumatoideo pueden afectar los resultados esperados.
- La sensibilidad del producto puede variar según la cepa de leptospira circulante en el momento del ensayo.
- Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben interpretarse junto con otros procedimientos diagnósticos, así como según los hallazgos clínicos.

**REFERENCIAS**

- Stallman GND. The International Committee on Systematic Bacteriology: Subcommittee on the Taxonomy of Leptospira. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:472.
- Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14:296-326
- Ahmad SN, Shah S, Ahmad FMH. Laboratory diagnosis of Leptospirosis. J Postgrad Med 2005;51:195-200.
- Faine S, ed. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization, 1982.
- Cumberland PC, Everard COR, Levett PN. Assessment of the efficacy of the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. Am J Trop Med Hyg. 1999;61:731-734.
- Adler B, Murphy AM, Locamini SA, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1980;11:452-457.
- Appassakij H, Silpapojakul K, Wansit R, et al: Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 1995;52:340.

**Índice de Símbolos**

|                                   |   |                      |
|-----------------------------------|---|----------------------|
| Consulte las instrucciones de uso | Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> únicamente | Fecha de vencimiento |
| Número de catálogo                | Número de Lote                                  | Pruebas por kit      |
| Almacenar de 2 a 30°C             | No reutilizar                                   |                      |
| Fabricante                        | Fecha de manufactura                            |                      |

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

PI-R0101C-Spanish Rev. FP  
 Fecha de publicación: 2019-01-10  
 Versión en español

Solo para exportación. No para ser comercializado en los EUA



[www.medibac.com](http://www.medibac.com)