



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Informe final de investigación previo a la obtención del título de Licenciada en Ciencias de
la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Chikungunya, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio

Autora: Katherine Briggith Caiza Cuello

Tutora: Mgs. Yisela Carolina Ramos Campi

Riobamba - Ecuador

2021

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: “*Chikungunya*, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio”. Presentado por Katherine Briggith Caiza Cuello, dirigida por la Mgs. Yisela Carolina Ramos Campi, una vez escuchada la defensa oral y realizado el informe final del proyecto de revisión bibliográfica con fines de graduación, escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia de la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH.

Para constancia de lo expuesto firman:

Mgs. Ximena Robalino Flores

Presidenta del tribunal



Firma

Mgs. Eliana Martínez Durán

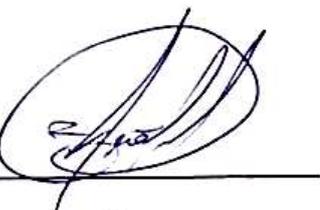
Miembro del tribunal



Firma

Mgs. Iván Peñafiel Méndez

Miembro del tribunal



Firma

CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, Mgs. Yisela Carolina Ramos Campi, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado: “*Chikungunya*, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio”, propuesto por Katherine Briggith Caiza Cuello, egresado de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apta para la defensa pública del proyecto.

Riobamba, 30 de noviembre de 2021



.....
Mgs. Yisela Carolina Ramos Campi

Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

DERECHO DE AUTORÍA

Yo, Katherine Briggith Caiza Cuello con C.I. 0650114838, soy responsable del presente trabajo investigativo con el título denominado “*Chikungunya*, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio” en el que se manifiesta ideas, pensamientos, criterios, análisis, resultados y conclusiones. Los derechos de autoría es patrimonio intelectual de la Universidad Nacional de Chimborazo.



Katherine Briggith Caiza Cuello

C.I. 0650114838

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo y a la Facultad de Ciencias de la Salud por brindarme una educación de calidad para poderme desempeñar profesionalmente.

De igual manera mis agradecimientos a los Subcentros y al Hospitales quienes me abrieron las puertas para forjar los conocimientos adquiridos empleando en la práctica día a día en el campo laboral.

A cada uno de los Docentes que formaron parte de mi vida Universitaria, que con paciencia compartieron y transmitieron sus conocimientos.

Así también a la Mgs. Yisela Ramos por brindarme la orientación, guía y apoyo en el desarrollo de la presente investigación.

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico a Dios, quien con su bendición me ha dado fortaleza para surgir todas las adversidades y cumplir mis propósitos.

Agradezco a mi familia, en especial a mi difunto padre Segundo Juan Caiza Gómez, que gracias a su legado de respeto, confianza y compromiso me ayudó a forjar mi futuro, a mi finado hermano Wilmer Patricio Caiza Cuello le agradezco por ser la luz que guía mi camino.

A mi madre, Inés Leonor Cuello Sánchez por ser el pilar fundamental en mi vida que siempre ha estado presta para mí velando por mi bienestar, que con amor, paciencia y esfuerzo me ayudó para cumplir esta meta.

A mi hermano Handerson Michael Caiza Cuello, quien fue mi apoyo a lo largo de la carrera universitaria brindándome sus consejos.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
Virus.....	3
Virus Chikungunya	3
Estructura	3
Filogenia.....	4
Vectores.....	4
Reservorios.....	5
Correlación entre el virus y vector	5
Ciclo de transmisión.....	5
Otras formas de transmisión.....	5
Periodo de incubación	6
Patogénesis.....	6
Manifestaciones clínicas	7
Manifestaciones atípicas	8
Diagnóstico de laboratorio	9
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	17
Tipo de investigación.....	17
Población	17
Muestra	17
Criterios de inclusión	18
Criterios de exclusión	18
Método de estudio.....	18
Técnicas y procedimientos.....	18
Instrumento	19
Procesamiento estadístico	19
Consideraciones éticas	19
CAPÍTULO III. DESARROLLO	21
Análisis y discusión	34
CONCLUSIONES	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados según el momento de la infección.....	16
Tabla 2. Características demográficas	22
Tabla 3. Características clínicas según la fase.....	23
Tabla 4. Caracterización de las manifestaciones atípicas.....	28
Tabla 5. Complicaciones en el embarazo por transmisión vertical	30
Tabla 6. Hallazgos de laboratorio en pacientes infectadas	32
Tabla 7. Comparación de las características de las pruebas confirmatorias	32

RESUMEN

El presente proyecto de investigación cumplió con el objetivo de recopilar información sobre *Chikungunya*, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio mediante la búsqueda y análisis de literatura científica. La metodología que se empleó fue de tipo descriptiva, de diseño documental, cohorte transversal y retrospectiva. Para la población de estudio se recolectó información válida de 96 documentos ubicados en las diferentes bases de datos reconocidas a nivel mundial como Scielo, Redalyc, ProQuest, Google académico, Medigraphic, PubMed, así como de sitios web de entidades, por ejemplo, de la Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud y el Ministerio de Salud Pública del Ecuador. De este número se obtuvo una muestra de 71 publicaciones. La técnica de recolección de datos fue la observación y como instrumento se utilizó las guías junto con libros y revistas que cumplieron con los criterios de inclusión. Los resultados obtenidos mostraron que la sintomatología fue variada, presentándose por fases aguda, subaguda y crónica, esto depende los días posinfección, siendo la artralgia, fiebre y mialgias los más representativos, aunque otros pacientes desarrollaron diferentes signos y síntomas como rash, edema, dolor retro orbitario, molestias gastrointestinales, fatiga, entre otros. Además, las manifestaciones atípicas frecuentemente en neonatos y lactantes fueron las lesiones ampollosas que desembocaron en vesículas. Dentro de los hallazgos de laboratorio, la linfopenia fue considerando como un indicador diferencial del Dengue, sin embargo, los exámenes confirmatorios son las pruebas serológicas para la detección de anticuerpos o pruebas moleculares para la detección del ácido ribonucleico viral.

Palabras clave: virus *Chikungunya*, *Aedes*, artralgia, fiebre, diagnóstico.

ABSTRACT

This research project fulfilled the objective of collecting information on *Chikungunya*, clinical characterization, and laboratory diagnosis through the search and analysis of scientific literature. The methodology used was descriptive, documentary design, cross-sectional cohort, and retrospective. For the study population, valid information was collected from 96 documents located in the different databases recognized worldwide such as Scielo, Redalyc, ProQuest, Academic Google, Medigraphic, PubMed, as well as from entity websites, for example, from the Pan American Health Organization, World Health Organization and the Ministry of Public Health of Ecuador. From this number, a sample of 71 publications was obtained. The data collection technique was the observation, and guides were used with books and magazines that met the inclusion criteria. The results obtained showed varied symptoms, presenting by acute, subacute, and chronic phases. It depends on the days after infection, with arthralgia, fever, and myalgias being the most representative, although other patients developed different signs and symptoms such as rash, edema, pain retro-orbital, gastrointestinal discomfort, and fatigue.

Furthermore, the atypical manifestations in neonates and infants were bullous lesions that led to blisters. Within the laboratory findings, lymphopenia was considered a differential indicator of Dengue. However, confirmatory tests are serological tests for detecting antibodies or molecular tests for the detection of viral ribonucleic acid.

Keywords: *Chikungunya* virus, *Aedes*, arthralgia, fever, diagnosis.



Firmado electrónicamente por:
**MARIO NICOLAS
SALAZAR RAMOS**

Reviewed by:

Mgs. Mario Salazar

ENGLISH PORFESSOR

C.C 0604069781

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los casos de Fiebre *Chikungunya* se incrementaron masivamente a nivel mundial específicamente en las zonas tropicales y subtropicales, a pesar de la alta morbilidad no existe un tratamiento específico ni vacuna que lo contrarreste. El alivio de los síntomas y la prevención de la propagación del vector son las mejores medidas de salud ^{1,2}.

El virus fue detectado en el sudeste de Tanzania perteneciente a África en el año de 1953. El nombre proviene del idioma Makonde lengua Bantú que significa hombre retorcido, enfermedad que dobla las articulaciones o artritis epidémica. En 1955 fue descrito por Robinson Marion y paulatinamente se diseminó por diversas partes del mundo, desde África, seguidamente a las islas del Océano Índico, India, el sudeste asiático, Europa, pasando por las islas del Caribe y así llegando a América Latina ^{1,3,4}.

Desde 1953 hasta inicios del año 2004, los contagios eran casos autóctonos, siendo el ciclo selvático el más relevante y el único vector era el mosquito *Aedes aegypti* ^{3,4}. En Kenya a finales del 2004, se propagó de manera acelerada en el cual el 75% de la población estuvo infectada, luego se extendió a las islas Comoro, Seychelles, Mauricio y Madagascar del Océano Índico. En marzo del 2005 en una colonia francesa de alta clase social denominada la isla Reunión el 35% estaba contagiada, pese a tener un servicio de salud de excelencia ¹.

Más adelante, la epidemia se expandió de India hacia Europa, particularmente en el Mediterráneo, también en Estados Unidos y otros países, los cuales presentaban más de mil casos. En Italia, el primer brote vírico transmitido por *Aedes albopictus* se produjo en el 2007 específicamente en la región de Emilia-Romagn. Entre el año 2009 y 2010 reapareció en la Isla de Reunión debido a los viajeros virémicos y a finales del mismo año se reportaron casos autóctonos en la Rioja perteneciente a España ^{1,3,5}.

En el 2013, en América Latina se documentó las primeras personas con transmisión autóctona. En Perú hasta diciembre de 2014, se notificaron 11 contagios no nativos y en Colombia se presentaron 696 casos confirmados, luego, en el 2015 reflejaron 286 913, en cuanto en República Dominicana 539 228 y en El Salvador 146.280 ^{1,3}.

Se comunicaron brotes en Sudán en el año 2018, así como en Yemen en el 2019 y últimamente en el 2020 en Camboya y en Chad. El último reporte del 2017 brindado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) demostró que la región de Las Américas presentó 123 087 casos del cual el 90% pertenecía a Brasil, es decir, la tasa de incidencia fue de 18,27 por cada 100 000 habitantes, además, confirmó la muerte de 101 personas ⁵⁻⁸.

En Ecuador, los primeros casos autóctonos reportados fueron en los últimos meses del 2014. En el 2015, fue el boom de este virus, por tanto, se notificaron 11 897 casos de los cuales 230 fueron confirmados por laboratorio y 1 569 por clínica, además 2 muertes en la provincia de Esmeraldas en San Lorenzo. En el año 2017, se confirmaron 196, luego en el 2018 disminuyó a 8, y al siguiente año se informaron 2 por laboratorio y hasta el año 2020 se reportó 1, la mayoría se desarrollaron en la zona costera ^{6,9,10}.

El Ministerio de Salud del Ecuador implementó una directriz para llevar los casos de Dengue, *Zika* o *Chikungunya* en el cual consta en notificar todos los casos ya sean sospechosos o confirmados para poder seguir los protocolos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del 2009, además consta con un sistema nacional de vigilancia de zonas tropicales en el cual realizan seguimientos en los hospitales o clínicas públicas ⁹.

El seguimiento se basa en el registro de los datos epidemiológico que ayuda a determinar la incidencia de la enfermedad por medio de la identificación de transmisión local o importada, así como las características clínicas, además se apoya en las pruebas de laboratorio clínico, microbiológico, serológico y virológico que corroboran al diagnóstico de la enfermedad ¹¹.

Esta es una problemática de salud de la comunidad, y en conjunto con otras enfermedades tropicales como el Dengue, *Zika*, Malaria, Fiebre Amarilla, representan el 11% de morbilidad en el mundo. Los signos y síntomas son similares a las del Dengue, por cuanto, no son específicos para determinar un resultado, pero la manifestación más relevante es el fuerte dolor en las articulaciones ^{3,5}.

La incidencia de esta enfermedad se ha incrementado por diversos factores como la distribución geográfica, los aspectos demográficos, las condiciones ambientales y socioeconómicas. Existen otras causas para la propagación como la falta de programas de

control para el vector, campañas de educación ciudadana, crecimiento de la población, criaderos del mosquito, ámbito laboral, invasiones, el incremento del tráfico aéreo y las infraestructuras defectuosas de salud que no cumplen con las directrices establecidas para el correcto diagnóstico por lo general en los países subdesarrollados ^{5,12,13}.

Virus

Son partículas pequeñas que pueden medir entre 20 y 300 nanómetros (nm), contienen código genético ya sea de ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN), la mayoría de los virus están cubiertos por una envoltura de proteínas denominada cápside, pero otros virus se encuentran encapsulados por una membrana de la célula infectada ^{14,15}.

Los virus para ser replicados necesariamente se deben introducir en una célula para infectarla, debido a que, son seres intracelulares estrictos, es decir no pueden desarrollarse fuera de ella, ya que, estos utilizan los elementos de esta para formar sus propias copias, de tal manera, pueden llegar a lesionarlas o asesinarlas para su multiplicación. Según la etimología significa veneno ^{15,16}.

Virus *Chikungunya*

Estructura

Está compuesto por una molécula de ARN de cadena sencilla con polaridad positiva. El genoma de esta hebra es idéntico al ARNm viral, por ende, la secuencia específica puede ser traducida directamente en las proteínas virales requeridas por la célula hospedadora. Tiene una forma esférica, con un tamaño pequeño entre 60 y 70 nm de diámetro ^{17,18}.

El genoma viral tiene una longitud aproximada de 11,5 kilobases (kb) de longitud, conformado por 2 porciones. La primera es de 7kb y codifica las 4 proteínas no estructurales que son nsP1, nsP2, nsP3 y nsP4, las cuales involucran en la replicación viral, mientras que, la otra es de 4kb que codifica las 5 proteínas estructurales que son: proteína de la cápside (C), glicoproteínas de envoltura 1, 2 (E1, E2) y 2 péptidos pequeños (E3 y 6k), las cuales constituyen la partícula viral madura ^{19,20}. En la nucleocápside se ensamblan los componentes del virus. Tiene forma icosaédrica que está configurada por una cadena de ARN genómico y 240 monómeros de proteínas de la cápside. Está recubierta por una

envoltura de lípidos ¹. (Anexo 1)

La superficie está compuesta por una doble capa de fosfolípidos, donde se encuentran las glicoproteínas E1 y E2. Estas conforman 80 espigas. Cada una está formada por 3 heterodímeros de E1 y E2, además estas proteínas son transmembrana que presentan regiones citoplasmáticas C-terminales que interaccionan con la nucleocápside. La glicoproteína E2 incorpora un péptido de fusión que ayuda al ingreso desde endosoma al citoplasma con la finalidad de que exista una interacción con la célula hospedera. El ciclo replicativo dura 4 horas, por tanto, se le considera muy activo ¹. (Anexo 2)

Filogenia

La taxonomía de este virus corresponde a la familia *Togaviridae* del género *Alphavirus*, denominado con la letra alfa, por formar parte del grupo A de los arbovirus. Se encuentran el Virus *Chikungunya*, el virus de la Fiebre Equina Venezolana del Oeste y del Este, Virus Fort Morgan, el Virus *Mayaro*, entre otras especies no distribuidas en América y que solo se presentaron en Europa ^{17,18}. Le han distinguido tres tipos de linajes que son: el de África occidental, del Este, Central y Sur de África (ECSA), y el asiático. Son diferenciados por el genoma, las características antigénicas y la distribución geográfica. ^{19,20}.

Vectores

Transmitido por artrópodos hembras que se alimentan de sangre denominados hematófagos, principalmente de la picadura del mosquito *Aedes*. Pertenece al reino *Animalia*, de orden díptera de la familia *Culicidae*, del subgénero *Stegomyia*. Morfológicamente es de color café oscuro o negro con rayas blancas en las patas, cabeza y cuerpo dando un aspecto bandeado como una lira. Presenta un tamaño de 5-10 mm, conformado por 2 pares de alas translúcidas y 6 patas ^{21,22}. (Anexo 3)

El *Ae. aegypti* fue el primer vector que se detectó en África, luego mosquito *Ae. albopictus* en Asia y diseminándose en Europa, África y el continente americano. Esto se debe a la mutación del virus en la posición 226 de la proteína E1 (E1-A226V) reemplazando a alanina (A) por valina (V), de tal forma mejoró la diseminación del virus. Además, mutó en la proteína E2 cambiando por ácido glutámico o glutamina (E2-R198Q, E2-L210Q y E2-K252Q), el cual aumentó la capacidad de adaptación a este vector y se convirtió más

infectivo, replicativo y virulento ^{3,4}.

En el ciclo selvático también se puede transmitir por el *Ae. luteocephalus*, *Ae. furcifer*, *Ae. africanus* y el *Ae. taylori*. Estos vectores, se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales, aunque *Ae. albopictus* también se desarrolla en ambientes templados, incrementando su afluencia en la temporada de invierno. Se encuentran en zonas urbanas, periurbanas y rurales, reproduciéndose en contenedores artificiales y naturales. Frecuentemente pican en horas de la mañana o al final de la tarde ^{1,19,23}.

Reservorios

Ae. albopictus es antropofílico, siendo netamente el hospedero el ser humano, en cambio, *Ae. aegypti* es antropofílico y zoofílico. Hay otros reservorios vertebrados como los primates no humanos, por ejemplo, los monos, chimpancés, además, de los roedores y aves. Cabe resaltar que, no existe una reinfección, debido a que, el sistema inmunitario desarrolla anticuerpos brindando una inmunidad de por vida ^{18,19}.

Correlación entre el virus y vector

El vector al picar a un hospedero virémico obtiene sangre, donde se encuentran las proteínas fundamentales para el crecimiento de los huevos. Al ingresar el virus al mosquito, este se reproduce en las células epiteliales del intestino medio. Estos son liberados por medio de la membrana basal, para llegar a la hemolinfa, por esta vía se invade a otros tejidos como las glándulas salivales. Al picar a un nuevo hospedador sano el mosquito secreta saliva, evitando el taponamiento y la obstrucción de la probóscide ya que este fluido contiene componentes anticoagulantes ¹⁸.

Ciclo de transmisión

Existen 2 tipos, el selvático o silvestre, en el que se transmite el virus del vector infectado *Ae. aegypti* al hospedador primate como el chimpancé o humanos que vivan cerca de la selva, en zonas periurbanas o rurales y el ciclo urbano que engloba a *Ae. albopictus*, siendo el reservorio principal el ser humano y se desarrolla en las ciudades ²⁴. (Anexo 4)

Otras formas de transmisión

Existe la probabilidad del 48,7% que se produzca una transmisión vertical, especialmente,

cuando las gestantes se infectan en el periodo próximo al parto o intraparto. Está relacionada con la enfermedad neonatal grave, mientras que, en las primeras etapas del embarazo es menor la probabilidad de transmisión, y de ser el caso, puede producir el aborto, tomando en cuenta, que no existe efecto protector con la cesaría, sin embargo, no hay evidencia de transmisión por lactancia ^{19,24}.

Por lo general, el recién nacido al cuarto día desarrolla todos los síntomas que lo caracterizan, y puede desencadenar a patologías como meningoencefalitis, miocarditis, lesiones de sustancia blanca, edema cerebral, síntomas hemorrágicos y hemorragia intracraneana, debido a que pertenecen a la población de riesgo en relación con otros grupos etarios ¹.

Por transfusión sanguínea hay pocos casos reportados, por tanto, para donar se debe cumplir ciertos requisitos, ya que entre el 3 - 28% de las personas suelen ser asintomáticas. En casos de que haya padecido se difiere 1 mes, por otro lado, si reside o ha viajado a lugares endémicos y no presenta síntomas será excluido temporalmente por 2 semanas. No se ha registrado casos de transmisión por trasplante de órganos, sin embargo, puede infectar las córneas y en caso de un trasplante se puede contagiar por vía ocular ^{1,19}.

Periodo de incubación

Existen 2 periodos, el primero es de incubación en el vector o extrínseca, hace referencia al tiempo que dura entre la penetración del virus al vector y al momento donde el mosquito finalmente tiene la capacidad de transmitir el agente infeccioso al hospedador final. Tiene un lapso 10 días, después de ese plazo, el mosquito se vuelve infectivo ²⁵. (Anexo 5)

El periodo de incubación intrínseca o de latencia, es la etapa entre la picadura del mosquito infectado al hospedador sano y el tiempo donde se vuelve virémico, por eso es recomendable que esa persona no esté en lugares donde hay el desarrollo del vector para que no se replique el ciclo de transmisión esta fase dura de 3 a 7 días, pero tiene un rango de 1 a 12 días ^{13,19,26}.

Patogénesis

Presentan 3 estadios que son: el intradérmico, sanguíneo y el daño de los órganos diana. El primero, se da cuando el vector infectado pica al hospedero, en el cual ingresa los viriones por la dermis hacia los capilares subcutáneos, donde se produce la replicación viral

localizada a nivel de las células endoteliales, fibroblastos y macrófagos ^{1,27}. (Anexo 6)

A continuación, va a los nódulos linfáticos locales, en donde sigue la replicación y es drenado por medio del conducto torácico hacia la circulación sanguínea, en este proceso actúan los monocitos que son los encargados de la diseminación en los órganos diana como el hígado, cerebro, músculo y articulaciones. La apoptosis se produce en el hígado, mientras que, en los órganos linfoides se manifiestan las adenopatías. En las articulaciones y músculos, se desarrolla la replicación viral y la infiltración mononuclear siendo la causante del fuerte dolor y la artritis ^{1,27}.

Manifestaciones clínicas

Después del periodo de incubación, se encuentra títulos altos del virus. Por lo general, en este periodo los contagiados presentan sintomatología, pero otros son asintomáticos, que son un peligro para la propagación, pese a que no se transmite de persona a persona, hay la probabilidad de que sea picado por el mosquito y se disemine la enfermedad incrementando el número de los casos, en especial en las zonas cálidas. Existen 3 tipos de fases que se producen: la aguda, subaguda y crónica, esto depende del tiempo que dura los signos y síntomas que presente el individuo ^{19, 20}.

Fase aguda

Esta fase se caracteriza porque se manifiesta de forma abrupta con fiebre, presentando una temperatura mayor de 39 °C que perdura hasta 3 días. Otro signo es la presencia de artralgias, mialgias, erupciones cutáneas, vómitos y síntomas como cefalea, náuseas, fatiga, dolor conjuntival. El tiempo de duración es de 2 semanas ²⁸⁻³¹.

La poliartralgia puede impedir la movilidad por el dolor severo en las articulaciones, que puede presentar o no inflamación. En cuanto, a los síntomas conjuntivales se encuentra la fotofobia. Las erupciones cutáneas aparecen a los 3 días del inicio de esta etapa, en la que refleja un exantema maculopapular que comienza en el tronco para llegar a las extremidades y no se descarta la afectación a las palmas de las manos, las plantas de los pies y la cara. También se evidencia lesiones vesículo-ampollosas con descamación. La aparición de las petequias y enantemas en la mucosa oral ^{28,29,32,33}. (Anexo 7)

Fase subaguda o convaleciente

Es la etapa de la reaparición de algunos síntomas, esto se da a los 10 o 14 días de haber suscitado la fase aguda y puede durar hasta 2 meses. Dentro de los signos más repetitivos son: poliartralgias, artritis, tenosinovitis hipertrófica subaguda de muñecas y tobillos, exacerbación del dolor óseo y muscular como la bursitis, periostitis, entesitis y tendinitis, tomando en cuenta que, la rigidez de las articulares aumenta en horas de la mañana en periodo constante o intermitente^{20, 34-36}.

La debilidad, fatiga, edemas y depresión forman parte de los síntomas de esta etapa. Otras características son los dolores neuropáticos y los trastornos de tipo vascular periférico como el síndrome de Raynaud. Además del síndrome del túnel carpiano que forma parte de los síndromes de compresión nerviosa^{13,20,34,37}.

Fase crónica

Se considera así por la persistencia de la sintomatología especialmente de la artralgia que es acompañada de edema y rigidez articular matutina, depresión y fatiga, que puede durar por más de 3 mes o años. De la misma manera que en la fase aguda, la artralgia y artritis se desarrollan de forma bilateral y simétrica que puede llegar a ser migratoria, y el dolor puede estar de forma continua o intermitente^{20,38,39}.

Cabe señalar que, para el avance de la enfermedad influye ciertos factores de riesgo como tener una edad menor a 5 años o mayor a los 65 años, antecedentes de enfermedades articulares, diabetes, hipertensión, insuficiencia renal crónica, enfermedad cardiovascular, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), tuberculosis (TB), enfermedad de células falciformes³⁴.

Manifestaciones atípicas

Se presentan por 3 factores, el primero es cuando existen efectos directos del virus, el segundo debido a la reacción inmunológica o el tercer por el nivel de toxicidad de los medicamentos^{13,40,41}. En el sistema neurológico, se evidencia encefalopatía, meningoencefalitis, síndrome cerebeloso, síndrome Guillain-Barré, parálisis, parestesia y neuropatía. A nivel ocular, se desarrolla retinitis, iridociclitis, neuritis óptica, episcleritis y uveítis. Las manifestaciones de tipo cardiovasculares son: miocarditis, pericarditis,

inestabilidad hemodinámica, arritmias e insuficiencia cardiaca ^{4,13}.

La piel puede sufrir hiperpigmentación fotosensible, dermatosis vesicular, úlceras intertriginosas parecidas a úlceras aftosas, intertrigo. Los riñones son afectados hasta desencadenar en nefritis, insuficiencia renal aguda, mientras que, en el sistema respiratorio, el paciente tiene neumonía o insuficiencia respiratoria. Hay que tomar en cuenta, que existen otras manifestaciones como discrasias sangrantes, hepatitis, pancreatitis, hipoadrenalismo y el síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH) ^{5,13}.

Diagnóstico de laboratorio

Se basa en diversos parámetros, como relacionar el lugar de procedencia, con los antecedentes patológicos, las características clínicas que presente el individuo para determinar la fase de la enfermedad, en otras palabras, hacer una investigación exploratoria para luego ejecutar los exámenes confirmatorios, que brindan un resultado veraz ¹.

Un caso sospechoso se le considera cuando hay una correlación de la sintomatología, con los datos epidemiológicos, mientras que un caso confirmado engloba los parámetros antes mencionados más el diagnóstico clínico. Las características más relevantes en el criterio clínico son fiebre >39 °C, artralgias, rash y linfopenia. Dentro de los datos epidemiológico debe constar información del paciente si vive, viajó o tuvo contacto con alguna persona que haya estado en áreas endémicas durante las 2 semanas últimas. La confirmación por medio de pruebas de laboratorio ^{1,42}. (Anexo 8)

Pruebas Presuntivas

Hallazgos de laboratorio

El paciente presenta leucopenia y linfopenia, siendo el parámetro más relevante en esta enfermedad, y el más inusual es la trombocitopenia, por el contrario, en el Dengue se evidencia con mayor frecuencia, considerándoles como indicadores diferenciales. La velocidad de sedimentación globular (VSG), la proteína C reactiva (PCR), y las enzimas de función hepática como el aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) se encuentran elevadas, pero cabe indicar que estos exámenes son inespecíficos ^{13,20,36,43}.

Prueba Inmunocromatográfica

También denominada prueba rápida o de casete. Es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral que utiliza muestra de suero o plasma humano de 8 días posinfección. Está conformada por una membrana que contiene el antígeno conjugado con oro coloidal que al entrar en contacto con la muestra migra por capilaridad hacia la membrana de nitrocelulosa, la cual está recubierta por IgM e IgG antihumano de ratón, que en acción genera una línea que es de color ^{44,45}. (Anexo 9)

Un resultado es positivo cuando se visualiza la raya en el casillero marcado para la respectiva inmunoglobulina y para el control (C), mientras que, se considera negativo en el caso de que solo se reflejara el indicador en la zona de control. Es inválido, cuando no marca la línea C, ya que siempre aparecerá debido a que, consta del inmunocomplejo conjugado de IgG de ratón-oro y cabra anti-IgG de ratón, que sirve como indicador del volumen adecuado de muestra, la absorción de la membrana y la validez del dispositivo ^{44,45}. (Anexo 10)

Se le considera como un examen preliminar debido a que tiene limitaciones como la sensibilidad que presenta de 89 a 90 % dependiendo de la casa comercial, la capacidad de reacción cruzada con otros *Alphavirus*. Si se obtiene un resultado negativo se debe esperar 8 días para volver a realizar el test y en un resultado positivo con una sola muestra se le considera como un resultado presuntivo para aplicar pruebas adicionales ⁴⁶. (Anexo 11)

Pruebas confirmatorias

Se utilizan para corroborar los datos obtenidos, se basan en métodos directos como el aislamiento viral y el Reacción en Cadena de la Polimerasa con Retrotranscriptasa (RT-PCR), o en métodos indirectos como los de serodiagnóstico que son Enzimoinmunoanálisis de Absorción (ELISA) o la Prueba de Reducción y Neutralización de Plaquetas (PRNT) acompañado de exámenes de rutina ⁴². (Anexo 12)

Aislamiento viral

También denominada prueba de oro, es un examen confirmatorio de alta especificidad, que requiere del cultivo viral. Además, mediante el aislamiento del virus se puede hacer estudios biológicos, antigénicos, moleculares y genéticos, pero no es común el empleo de esta

herramienta en la práctica clínica, puesto que, los resultados son tardíos en caso de un diagnóstico temprano y se necesita laboratorios que cumplan con los parámetros para el desarrollo de la investigación ^{42,47}.

Se basa en el cultivo del virus, mediante el uso de una muestra de suero con un límite de hasta los 3 días desde el inicio de los síntomas y es inoculada en los cultivos celulares del mosquito o cultivos de células de mamíferos. Los métodos con alta sensibilidad de aislamiento del agente son la inoculación intratorácica de mosquitos o la inoculación de larvas de mosquitos. Para la replicación del virus fundamentalmente necesita de células dado que, sin ellas el virus no podrá desarrollarse ^{48,49}.

Las líneas celulares empleadas se clasifican en 2 grupos: las que provienen de mamíferos, que son las Vero, LLC-MK2, BHK-21 y 293T; o la que deriva del mosquito *Aedes albopictus* como C6/36, que obtiene títulos virales más altos. El cultivo celular está formado por una capa de células vivas que ayuda al crecimiento del virus, estas pueden ser primarios, secundarios o diploides y continuos ^{42,50}.

Tras de la detección del efecto citopático (ECP) que se observa de 1 a 3 días luego de la inoculación a una temperatura de 37 °C en líneas del vector o 28 °C en línea de mamíferos, se realiza la identificación del virus mediante métodos de neutralización del crecimiento del virus, biología molecular o por inmunofluorescencia indirecta (IF). En esta última técnica se usa anticuerpos monoclonales específicos por cada serotipo, pero tiene una desventaja por no ser tan específica ^{42,48}.

Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT- PCR)

Es una técnica de alta sensibilidad, que no depende de la producción de un anticuerpo específico, sino se basa en la detección del ácido nucleico del virus al poco tiempo de la infección, brindando un diagnóstico rápido y oportuno. Este método presenta un paso adicional que es la transcripción inversa y utiliza al ARN como molde ⁴⁹. (Anexo 13)

La muestra empleada es el suero recolectado de 1 a 8 días desde el inicio de la enfermedad, debido a que, pasados esos días la respuesta inmune actúa desapareciendo las partículas víricas. Este método también es útil para identificar el serotipo viral circulante, genotipificar

el virus, identificar la especie de un mismo género vírico, detectar los diversos virus y comparar muestras de virus de diferentes zonas geográficas ⁴⁹.

Por medio de este método se obtiene varias copias de una secuencia genética específica para posteriormente estudiarla, se basa en el uso de una enzima denominada retrotranscriptasa que transforma una parte específica del ARN en un fragmento de ADN compatible o complementario (ADNc), luego por medio de otra enzima llamada ADN-polimerasa, que amplifica ese fragmento y las copias amplificadas ayudan a identificar si existe un gen que fabrique la molécula específica de ARNm ^{42,51}. (Anexo 14)

Las sondas específicas para el ARN y para el Control interno están señaladas con un fluorocromo distinto, las cuales emiten una fluorescencia diferente, que ayuda tanto para la detección como para garantizar el funcionamiento de canales de detección del instrumento de PCR en tiempo real, de tal forma, brinda calidad en el servicio y evita los falsos negativos. Un resultado se considera como positivo cuando se han liberado las moléculas fluorescentes activas de la sonda, en consecuencia, la fluorescencia aumenta, obteniendo el umbral de ciclos (CT) menor a 38. En cambio, es negativo cuando es mayor a 38 ciclos de reacción ^{36,47,52,53}. (Anexo 15)

Existen tres modalidades que son: convencional, dúplex y de tiempo real. Se diferencian por varios factores como el tiempo que conlleva cada ensayo, la capacidad de detectar distintos virus al mismo tiempo y la cuantificación del ácido nucleico. En lugares donde circula el Dengue y *Chikungunya*, la convencional no es la mejor opción, que pese a ser de gran especificidad y sensibilidad, presenta una limitación en cuanto a la detección diferencial de ambos virus, en consecuencia, se realiza dos veces la técnica, por ende, el diagnóstico demora para que el médico brinde la terapéutica correspondiente ⁷.

En cambio, en la RT-PCR multiplex se puede diferenciar el virus *Chikungunya* y Dengue en un solo proceso, por tanto, disminuye el tiempo de diagnóstico. La última, es la prueba completa de alta sensibilidad y especificidad, que permite cuantificar el ARN viral, detectar los dos virus forma simultánea y la palabra tiempo real que hace alusión a que en cada ciclo de la reacción se detectan los productos amplificados ⁷.

Enzimoimmunoanálisis de Absorción (ELISA)

Por las siglas en inglés de Enzyme Linked Immunosorbent Assay, es de alta sensibilidad y especificidad. Se basa en la detección de anticuerpos IgM e IgG en las fases aguda y subaguda o convaleciente contra el virus en muestras de suero. Por lo general, el nivel de IgM se aumenta a partir del cuarto al séptimo día posinfección y puede durar de 2 a 3 meses, luego de este tiempo cae los niveles de IgM y no son detectables ^{20,54}.

En caso de que la muestra haya sido tomada antes del séptimo día y el resultado es negativo, se interpreta como resultado no conclusivo, debido a que el organismo puede demorar varios días para producir anticuerpos contra el virus, por lo que, se debe solicitar un nuevo examen con una muestra con más de 8 días después del inicio de los síntomas. Un caso descartado es cuando la muestra ha sido tomada después de los 8 días posinfección y no hay presencia de IgM ⁴⁹.

En casos positivos para confirmar el resultado, se debe tomar dos muestras separadas, la segunda muestra se recolecta con 2 semanas de diferencia en relación a la primera, si el resultado de las muestras es positivo por un aumento de títulos de anticuerpo debido a un estímulo antigénico se le considera confirmado la existencia de infección aguda, mientras que, se descarta el caso cuando un resultado es negativo ⁴⁹. (Anexo 16)

Las IgG son anticuerpos que permanecen para toda la vida, aparecen luego de la IgM. En el diagnóstico es positiva cuando el aumento sea mayor de 3 a 4 veces el título de anticuerpos IgG específicos, siendo superior que los valores normales. Se utiliza dos muestras con una diferencia de tiempo de 15 días, por cuanto, se recomienda medirla cuando los resultados sean negativos en los métodos para detectar el virus. Se le considera como una prueba menos específica en comparación con ELISA para IgM ^{7,49,55}.

Los pacientes con crioglobulinemia pueden dar falsos negativos debido a dificultad que provoca para la identificación específica del alfavirus ya que la conservación del suero que por lo general se mantiene a 4°C, pero estas proteínas son muy sensibles a la temperatura, por tal motivo se conserva a 37°C para que se disuelvan las crioglobulinas que hayan precipitado ⁴⁷.

Un resultado es positivo si la absorbancia es mayor al 10% del valor del cut-off que es 10, obteniendo como valor referencial 0,150 – 1,30. Cuando es menor al 10% del valor del punto de corte se le considera como negativo, mientras que, si esta entre el $\pm 10\%$ no se puede reportar como positivo o negativo ya que se encuentra en una zona gris o intermedia ^{56,57}.

Prueba de reducción y neutralización de placas (PRNT)

La finalidad es confirmar los resultados de la prueba ELISA basándose en la cuantificación de los anticuerpos que sean neutralizantes para este virus. La muestra que se utilizan es de la fase aguda y convaleciente. Para que un resultado sea positivo debe ser 4 veces mayor la concentración de los anticuerpos de la muestra del periodo convaleciente en comparación de la aguda, siendo inversamente proporcional en relación con el inicio de los síntomas. Se interpreta que el individuo está desarrollando anticuerpos para contrarrestar ^{12,58}.

El suero es mezclado con una suspensión viral en una proporción 50:50, para luego incubar con el propósito de que el anticuerpo reaccione ante el virus. Posteriormente se vierte esta emulsión sobre una monocapa de células hospedadoras por lo general son las VERO CCL-81. La superficie de esta capa está recubierta por un Agar o carboximetil celulosa, que ayuda a evitar que el virus se disperse ⁵⁸.

Mediante el número de placas o regiones de células infectadas que forman al transcurrir algunos días, se puede determinar la concentración de unidades formadoras de placa. Para el conteo de estas unidades, se realiza por observación de anticuerpos fluorescentes o colorantes especiales que reaccionan ante la presencia de estas ⁵⁸.

Las desventajas son: la complejidad del ensayo, el tiempo empleado en comparación de una ELISA, y la selección de la línea celular, por consiguiente, si es incorrecta puede dar falsos positivos interpretándose como que los anticuerpos presentaran la capacidad de neutralización cuando en realidad no lo hacen, o pueden dar falsos negativos que parezcan ineficaces cuando en verdad poseen esta característica ⁵⁸.

Elección de la prueba

Para elegir la prueba confirmatoria de laboratorio se fundamenta en 2 parámetros: el primero, es el origen de la muestra que frecuentemente es del ser humano, pero también puede ser del

mosquito y el segundo se basa en el instante de la recolección de la muestra en relación al inicio de los síntomas ¹².

Tipos de muestra y recolección

Por lo general se utiliza es suero, sin embargo, en casos neurológicos que presenten características meningoencefálicas se puede utilizar el líquido cefalorraquídeo (LCR) o en casos de artritis con derrame lo útil es el líquido sinovial. Además, en el ámbito forense en autopsias, se utiliza la muestra que se encuentre disponible como el suero o el tejido. La fase en la que se encuentre el paciente va acorde a la recolección. Si la toma es hasta los 8 días de la enfermedad se le denomina que se encuentra en la fase aguda, mientras que si es recogida entre los 10 a 14 días pertenece a la etapa convaleciente ¹².

Procesamiento

La muestra sanguínea se obtiene por venopunción, frecuentemente del antebrazo con un volumen de 4 a 5ml de sangre en tubo sin anticoagulante. Seguidamente la sangre queda en reposo por 15 minutos a temperatura ambiente para que coagule y centrifugar a 2000 rpm para la obtención del suero ⁵⁹.

En fallecidos que hayan presentado características clínicas como fiebre, poliartralgias y eritema, sin causa de muerte y que haya sido originario o viajó a una zona endémica de este virus, la muestra ideal es la sangre, pero se puede sustituir con tejidos. Esta se coloca en solución salina a 0,9 % para el análisis mediante RT-PCR en tiempo real ⁵⁹.

Transporte

Las muestras de sangre se trasladan al laboratorio a una temperatura de 2° a 8°C, sin congelar. La hemólisis puede ser una interferencia para las pruebas serológicas, en caso de tardar el transporte, es preferible separar el suero y mantener en refrigeración. El suero para el aislamiento viral y pruebas moleculares se deben en almacenar en temperatura de congelación, siendo – 20°C para una conservación a corto plazo y -70°C para un mayor tiempo, excepto las de tejido que se mantiene de 2° a 8°C ¹³.

Interpretación

Comúnmente los resultados que se obtiene en las pruebas virológicas y serológicas según el

tiempo transcurrido de la sintomatología, se representan en la tabla 1

Tabla 1. Resultados según el momento de la infección

Días posinfección	Pruebas Directas	Pruebas Indirectas
1-3	RT-PCR: positivo Aislamiento: positivo	IgM: negativo PRNT: negativo
4-8	RT-PCR: positivo Aislamiento: negativo	IgM: positivo PRNT: negativo
>8	RT-PCR: negativo Aislamiento: negativo	IgM: positivo PRNT: positivo

Por esta razón este proyecto de investigación ha visto la necesidad de plantearse la siguiente interrogante: ¿Es de utilidad documentar la caracterización clínica y el diagnóstico de laboratorio del virus *Chikungunya*?, siendo el objetivo de la presente investigación el recopilar información sobre *Chikungunya*, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio mediante la búsqueda y análisis de literatura científica.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

Tipo de investigación

Según el nivel: esta investigación fue de nivel descriptivo porque se obtuvo información de las diversas literaturas relacionadas al tema investigado sobre el *Chikungunya* como las características generales, las manifestaciones clínicas, el diagnóstico en el laboratorio y lo más relevante que identificó al tema.

Según el diseño: de diseño documental- no experimental debido a que la investigación se basó en la revisión bibliográfica en artículos, libros, revistas e investigaciones actualizadas publicadas en las diferentes bases de datos, que permitieron sostener la importancia de la investigación, además no se manipularon las variables.

Según la secuencia temporal: fue de cohorte transversal ya que se desarrolló en un periodo de tiempo único y se obtuvo un solo bloque de resultados.

Según la cronología de los hechos: fue retrospectivo puesto que los datos que se recabaron para la investigación, se tomaron en consideración la información de archivos existentes o fuentes bibliográficas en un espacio de tiempo.

Población: la población de estudio de esta investigación estuvo constituida principalmente por 96 documentos validados y actualizados referentes al *Chikungunya*, caracterización clínica y el diagnóstico del laboratorio, encontrados en libros, revistas publicadas en bases de datos de gran impacto a nivel mundial como Scielo, Scopus, Dialnet, ProQuest, PubMed, Redalyc, Medigraphic, NCBI, Lilac, Science Direct, Dspace, Frontiers, Springerlink, Google Académico, también de sedes web oficiales como la OMS y la OPS.

Muestra: se trabajó con una muestra de 71 referencias bibliográficas, de tipo no probabilístico debido a que, se seleccionó material de aporte significativo de publicaciones, las cuales se clasificó según la base de datos especificadas a continuación: Scielo (9), Redalyc (2), Scopus (1), ProQuest (8), Medigraphic (5), NCBI (8), Dspace (3), PubMed (9), Science Direct (2), Springerlink (1), Frontiers (1), Google académico (12), web (10).

Criterios de inclusión

- Fecha de publicación en el intervalo del 2011 al 2021.
- Documentos publicados en español, inglés y portugués.
- Páginas web confiables.
- Fuentes bibliográficas con información sobre *Chikungunya*, características clínicas, diagnóstico e información sobre el mosquito *Aedes*.
- Documentos provenientes de organizaciones internacionales como de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la salud (OPS)
- Publicaciones del Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MPS)

Criterios de exclusión

- Fecha de publicación con más de 10 años (< 2011)
- Documentos publicados en idiomas distintos a los antes mencionados.
- Artículos con información sobre otros arbovirus y distintos artrópodos.
- Páginas web no verificadas.
- Documentos que no tengan relación con el virus *Chikungunya*.

Método de estudio: se empleó el método teórico debido a que, se efectuó un análisis y síntesis de la información encontrada sobre el *Chikungunya*.

Técnicas y procedimientos: se usó la recolección y revisión ordenada de la información, en conjunto con un análisis interpretativo de la literatura sobre el *Chikungunya*, características clínicas y el diagnóstico en el laboratorio contenidas en bases de datos científicas como Scielo, Scopus, ProQuest y sitios web de relevancia académica.

- La investigación se inició por medio de la recopilación de la información bibliográfica relacionada al *Chikungunya*, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio.
- Se estableció los criterios de inclusión y exclusión para determinar y ordenar la información que se requirió para el estudio.
- Se formuló hipótesis que comprendan la importancia de la investigación.

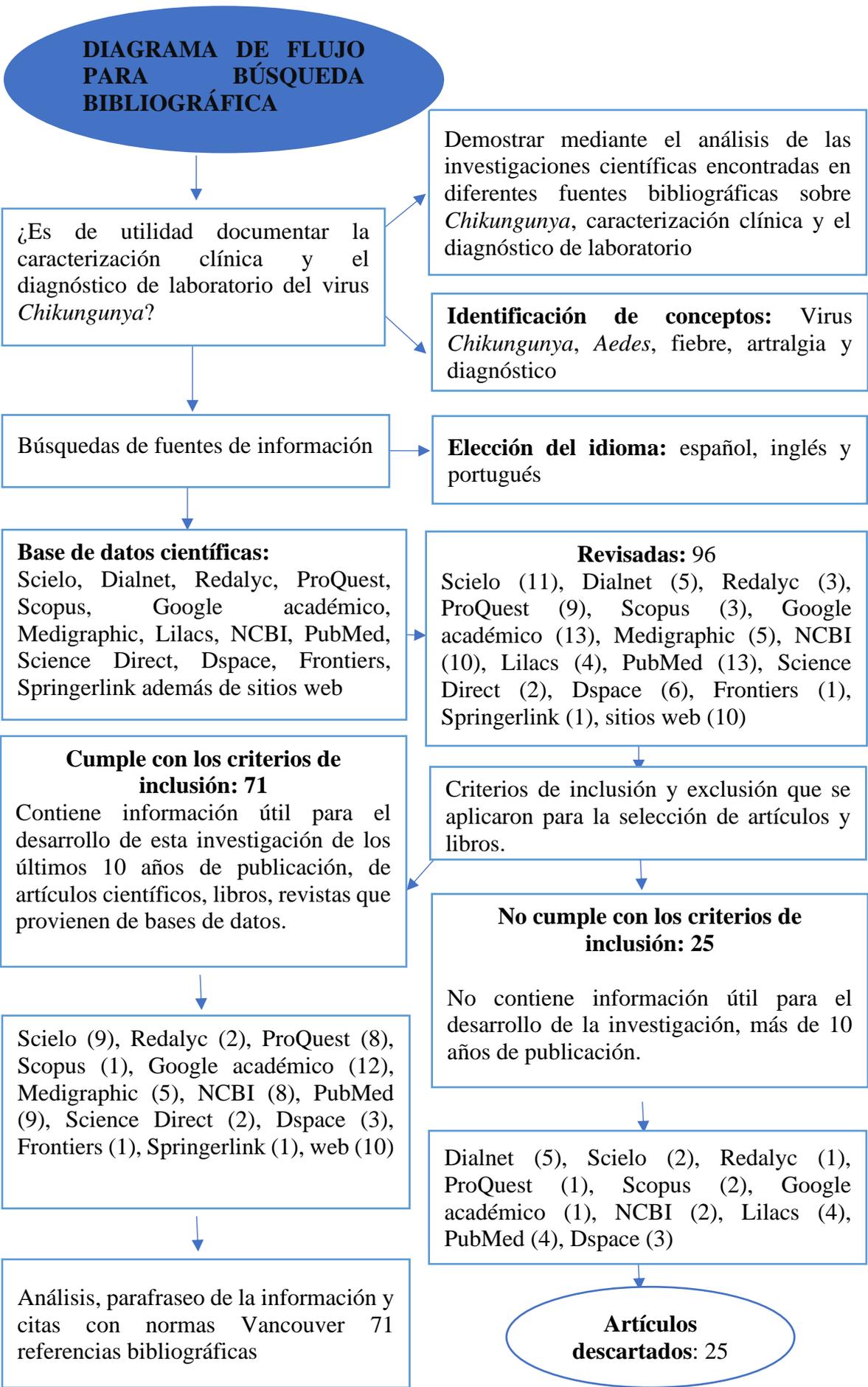
- Se estableció comparaciones mediante tablas y gráficos para una mejor comprensión de la información.

Técnica: observación.

Instrumento: los medios que se utilizó para la recolección y almacenamiento de la información fueron las guías junto con libros, revistas que cumplieron con el tiempo estipulado y que aportaron a la valoración de la investigación.

Procesamiento estadístico: los datos se presentaron de manera cualitativa para el análisis de los contenidos porque se interpretaron los resultados, para la acumulación de las evidencias mediante el uso de la triangulación de información.

Consideraciones éticas: no se produjo conflictos bioéticos debido a que, la muestra que se empleó no fue de origen biológico ya sea humano ni animal, por lo que, no se necesitó un comité de bioética que apruebe la investigación, de tal forma, se respetó los principios éticos de la investigación científica en el ámbito de la salud.



CAPÍTULO III. DESARROLLO

La Fiebre *Chikungunya* ha incrementado su transmisión en los seres humanos, debido al desconocimiento o falta de aplicación de las medidas de prevención como la eliminación de contenedores donde se desarrolla el mosquito vector, un plan de fumigación, el uso de ropa que cubra el cuerpo, el empleo de repelentes y mosqueteros, también ha aumentado el índice de contagios debido a viajeros que visitan países endémicos y al regresar son punto clave para que la diseminación de este virus, por tal motivo, es necesario identificar las características del virus como las manifestaciones clínicas y las técnicas que ofrezcan resultados en las distintas fases de la enfermedad.

En el presente proyecto de investigación de carácter bibliográfico, las principales fuentes de información fueron seleccionadas de acuerdo a la afinidad por el tema tratado y a la actualidad de la información. Se logró recolectar fuentes de información científica de distintas bases de datos como Scielo, Google académico, Redalyc, Scopus, ProQuest, Medigraphic, PubMed, Science Direct, Dspace, Frontiers, NCBI, Springerlink, las cuales fueron el pilar fundamental para el desarrollo, adicional se trabajó también con informes epidemiológicos, manuales y libros digitales de acceso abierto obtenidos de la OPS, OMS y MPS del Ecuador.

Para la interpretación de los resultados y análisis de la información validada, se efectuó 6 tabulaciones, y se anexo una tabla con datos importantes como: el autor, año, población y resultados. Se adjuntó la discusión correspondiente, en la cual se contrarrestó el estado de arte con los diferentes criterios o puntos de vista de los autores que coinciden o no en las investigaciones dando una explicación del contenido.

Tabla 2. Características demográficas

	Autor (Ver anexo 17)						
Características	Stewart A et al 9	Anwar S et al 30	Solís F et al 31	Jiménez C et al 32	Lozano R et al 36	Sosa M et al ³⁹	Cáceres C et al ⁶⁰
Relación Femenino: Masculino	68/124	1/1.34	79,5/100	59/100	70/100	2:1	64.5%
Embarazadas			62%	3,8%			
Edad en años en mujeres	35	40, 23	25	25-54	37-39	20-59	30 -39
Edad en años en hombres		30, 27					
Hospitalización	16,9%	0.54%		4,2%			
Nivel Socioeconómico	Medio- bajo	Medio					
Procedencia	Urbana		Urbana- 71,4%				
Tiempo (días) desde el inicio hasta la visita al centro de diagnóstico		5, 2					

Tabla 3. Características clínicas según la fase

Características clínicas	Autor (Ver anexo 17)															
	9	13	30	31	32	33	35	36	39	51	61	62	63	64	65	66
	Stewart A	OPS	Anwar S	Solís F	Jiménez C	Rueda J	Jaller J	Lozano R	Sosa M	Perret C	Langjoen R	Huits R	Monteiro J	Bloch D	Macpherson C	Genderen F
	%															
Artralgias		71-100	97,86	77,7	70,6	91	72	100	88,8	63	20	94	100	91	90	36,6
Fiebre	96	76-100	97,86	100%	91,3		50	100		94	91,7	85	91	86	88,6	
Escalofríos				38,4				82,3						65	50,2	
Mialgias		46-72	60	61,6	81,3				68	100	20	85		77		3,3
Cefalea	72,5	17-74	X	64,3	56,7		69	82,3	63,8	2		73		67	53,9	
Dolor retro orbitario	68,6	3-56		21,4										30	27,3	
Vómitos	23,1	4-59												28		

Somnolencia/letargo	88,5		X												
Dolor abdominal	36,5						46,8				3,7	28			
Anorexia	36,5														
Nauseas	36,5	50-69					31	71		19,6	2,6	28	26,9		
Erupción cutánea	34,6		X				53								
Ulceras mucosas						2,6									
Diarreas	30,8			7		18,8		33,9		19,6		14			
Sangrado	3,8														
Rash		28-77	X	74,1			67	66,1				47	42,9		
Mareos			X												
Tos			X								5	16			
Fatiga			X												
Rigidez articular			X	78							39				
Edema				24,1				43,5			39				13,3
Cianosis				1,8											
Conjuntivitis				6,3								30			4,4
Eritema maculopapular					74,3	44,7									
Dolor en las pantorrillas					64,8							44			

Adinamia					61,6											
Dolor del cuerpo										100					66,7	
Dolor de las rodillas					62,4	67						66				
Dolor de las manos					53,6					87						
Dolor de los tobillos					46,4	67				87		50				
Dolor de los pies					35,3							46				
Dolor de las muñecas					31,5	67				87		35				
Dolor de hombros						67						36				
Dolor de codos						67						34				
Dolor de cadera						67						31				
Dolor de espalda		34-50							72,2			28,1	100			
Exantema								82,3								11,11
Artritis		12-32						58,1						47		
Fase subaguda																

Poliartralgias								100	4,1							
Cefalea								87,9								
Exantema								81,8					63			
Escalofríos								75,8								
Náuseas								48,5								
Artritis								78,8								
Adenopatía								60,6								
Fatiga									62,5							
Depresión									41,6							
Fiebre				42,9												
Rash				33,9			5									
Dolor del cuerpo				20												
Poliartritis					41,1	33,6										
Dolor de hombros							6									
Dolor de codos							6									
Fase crónica																
Adenomegalias retroarticulares					8		55									
Dolor de espalda										40						

Fatiga								4,1							
Dolor articular		X					75								
Dolor muscular		X													
Fatiga		X													
Tenosinovitis distal		X													
Crioglobulemia		X													
Artritis reumatoide		X													
Complicaciones neurológicas		X													
Signos hemorrágicos		1-7													

Tabla 4. Caracterización de las manifestaciones atípicas

Manifestaciones atípicas		Autor (Ver anexo 17)				
		Acevedo N et al ¹⁰	Pérez G et al ¹¹	Muñoz C et al ⁴⁰	Turtos L et al ⁴¹	Harter S et al ⁶⁷
Manifestaciones neurológicas	Meningoencefalitis	X	X			X
	Encefalopatías	X	X			
	Síndrome cerebeloso		X			
	Síndrome Guillain Barré	X				X
	Parestesias		X			X
	Neuropatías		X			
	Parálisis		X			X
	Vasculitis	X				
	Enfermedad febril sistemática	X				
	Cefalea	X				
Manifestaciones oculares	Neuritis óptica		X			
	Iridociclitis		X			
	Epscleritis		X			
	Retinitis		X			
	Uveítis		X			X

Manifestaciones Cardiovasculares	Miocarditis		X			X
	Pericarditis		X			
	Fallo cardiaco		X			
	Arritmias		X			
	Inestabilidad hemodinámica		X			
Manifestaciones dermatológicas	Hiperpigmentación fotosensible		X			
	Intertrigo		X			
	Dermatosis vesicular		X	X	X	
	Lesiones ampollosas			X	X	
	Eritema con necrosis progresiva			X		
Manifestaciones renales	Nefritis		X			
	Insuficiencia renal aguda		X			X
Manifestaciones respiratorias	Neumonías		X			
	Insuficiencia respiratoria		X			
Otras manifestaciones	Hepatitis		X			X
	Pancreatitis		X			

	Hipoadrenalismo		X		
--	-----------------	--	---	--	--

Tabla 5. Complicaciones en el embarazo por transmisión vertical

Complicaciones	Autor (Ver anexo 17)				
	Foeller M et al ³	Harter S et al ⁶⁷	Ferreira F et al ⁶⁸	Ortiz J et al ⁶⁹	Corrales S et al ⁷⁰
Sufrimiento fetal		X	X	X	
Ruptura prematura de la membrana		X		X	
Oligohidramnios				X	X
Mortinatos					X
Parto pretérmino		X		X	X
Amenaza de parto pretérmino				X	
Pérdida fetal			X		X
Complicaciones hematológicas	X				X
Convulsiones	X				
Retraso del crecimiento	X				X
Complicación	X				

cutánea					
Anomalía congénita	X				X
Traqueomalacia	X				X
Hidrocele congénita	X				
Pie zambo	X				X
Infección	X				
Dificultad respiratoria	X				
Encefalopatía			X		

Tabla 6. Hallazgos de laboratorio en pacientes infectadas

Autor (Ver anexo 17)	Disminución de hemoglobina	Aumento de VSG	Linfopenia	Anemia	Neutrófilos	Trombocitopenia	Leucitopenia	AST	ALT	Proteína C reactiva
Anwar S, et al ³⁰	34,22%	70%	88%	38%	28	8%	33,69%			
Lozano R et al ³⁶			56,5%				54,8%	30-50%	24-43%	61,3%
Muñoz C et al ⁴⁰			X		52 %		8,2%	X	X	X
Perret C et al ⁵¹	20%		11,6%	25		8%	X	X	X	

Tabla 7. Comparación de las características de las pruebas confirmatorias

Características	Métodos Moleculares	Métodos Inmunológicos	Autor (Ver anexo 17)
Fundamento	Amplifica fragmentos de ácidos nucleicos	Detección de anticuerpos	Mendoza I, Ayala A ⁷
Tipo de prueba	Directa	Indirecta	Gómez M, Isaza D ²⁰
Tipo de muestra	Suero, LCR, Líquido sinovial o tejido	Suero	Martínez M et al ⁴⁹
Tiempo	1 a 7 horas	Minutos a 2 horas	Flórez L, Cardona J ⁷¹

Sensibilidad	99%, pero disminuye en fases tardías	Depende de la técnica
	90%	90%
Especificidad	No reacciones cruzadas	Falsos positivos y negativos por reacción cruzada con otros arbovirus
Etapa de detección	Fase aguda: 1-8 días: RT-PCR: positivo 1-3 días: Aislamiento: Positivo >4 días: Negativo Fase tardía >8 días: RT-PCR: Negativo	1-3: Ig M: Negativo 1-8 días: PRNT: Negativo >4 días: Ig M: Positivo >8 días: PRNT: Positivo
Costos	Costo elevado	Costos accesibles
Diagnóstico	Brindan un diagnóstico oportuno	No son confiables para el diagnóstico en la fase aguda. Los pacientes con crioglobulinemia pueden dar falsos negativos
Laboratorio	Se trabaja en laboratorio de NBS 3	Se puede trabajar en laboratorios de NBS 2

Análisis y discusión

En la tabla 2, se reflejó las características demográficas que presentan los individuos con este virus, en la cual se destacó el género femenino de 20-59 años de edad. En los artículos revisados tanto de Jiménez C et al ³², como el de Lozano R et al ³⁶, Sosa M et al ³⁹ y Cáceres C et al ⁶⁰, coincidieron en la relación de incidencia en mujeres como un común denominador así obtuvieron una proporción de 59/100, 70/100 y 2:1 respectivamente de la totalidad de la población, debido a diferentes factores como el embarazo y pasar la mayoría de tiempo en las viviendas, allí existen reservorios para el desarrollo del vector como agua estancada en llantas, floreros, tanques o por no utilizar medidas de protección como toldos.

En el estudio de Anwar S et al ³⁰, demostró de los 187 pacientes confirmados el 0,34% eran hombres de 30 años aproximadamente. En general, el nivel socio económico de las zonas urbanas influyeron como lo recalca Solís F, Soza O ³¹ debido a las condiciones de vida o falta de recursos, sin embargo, no hay un mayor porcentaje de hospitalizados como indicó el estudio de Stewart A et al ⁹, publicado en el año 2018, que de 324 pacientes con sospecha de infección solo el 16,9% requirió de este servicio, así mismo con la investigación de Anwar S et al ³¹, que solo el 0,54% se hospitalizó.

En la tabla 3, se distinguió las características clínicas que presentaron las personas infectadas, las cuales con mayor frecuencia fueron: artralgias, rigidez articular, acompañado de fiebre, mialgias, cefalea, somnolencia y erupción cutánea, tal como lo señaló el autor Rueda J et al ³³, que en los 548 pacientes, la artralgia se manifestó en los 12 sitios anatómicos de los dedos de las manos, muñeca, codos, hombros, rodillas, tobillos, dedos de los pies y cadera concordando con los el estudio de Jaller J et al ³⁵, pero para el autor Langsjoen R et al ⁶¹, la artralgia y mialgia representó solo el 20% indicando que no tiene gran valor diagnóstico en un 15% .

En la investigación de Jaller J et al ³⁵, Perret C et al ⁵¹, Huits R et al ⁶² obtuvieron como resultado que la poliartalgia se desarrolló de forma bilateral y simétrica en más del 60% de los casos. Otro síntoma repetitivo es el dolor de la espalda como lo mencionó Sosa M et al ³⁹, y concuerda con Monteiro J et al ⁶³ que el 72,2 y 100% presentaron esta complejidad por lo cual les dificultó la movilidad, de tal manera, lo denominaron hombre doblado. Además,

el escalofrío es muy frecuente como lo señaló Bloch D et al ⁶⁴, que de los 250 participantes de la investigación el 65% presentó esta complicación.

En cambio, los síntomas menos frecuentes fueron: dolor retro orbitario y abdominal como náuseas, vómito, así también exantema, edema, eritema maculopapular, molestias gastrointestinales siendo la más frecuente las náuseas como lo citó Stewart A et al ⁹ y Lozano R et al ³⁶, contraponiendo con los resultados de Rueda J et al ³³ que dentro de las afecciones intestinales fue la diarrea, así también en la investigación de Macpherson C et al ⁶⁵, el dolor abdominal y el de garganta no se asociaron con esta enfermedad, por lo que, no fueron un síntomas de relevancia clínica.

Las manifestaciones infrecuentes en esta patología fueron: la tos, fatiga, mareos, cianosis, conjuntivitis, anorexia, úlceras mucosas, sangrado ya que por lo general el sangrado es frecuente en el Dengue, pero no se descartó que también se presenta en esta patología, pero en menor proporción ⁹. Estas dependen de la etapa en la que se encuentre el paciente de tal forma, existe la fase aguda, subaguda y crónica como lo indicó Solís F et al ³¹, que algunos en la subaguda, unos síntomas continúan como la poliartalgias en hombros y codos, cefalea, exantema, escalofríos, náuseas, en tanto otras desaparecen como la fiebre y aparecieron nuevas características como la fatiga, adenopatías, depresión y artritis.

No obstante, en la crónica, según la Organización Panamericana de la Salud ¹³, hoy en día no hay muchos casos que lleguen a esta etapa, pero de ser el caso los síntomas son: dolor muscular y articular, fatiga, tenosinovitis distal, crioglobulemia, artritis reumatoide, complicaciones neurológicas y signos hemorrágicos, dolor de espalda de acuerdo con el estudio de Sosa M ³⁹ que de los 116 pacientes con serología positiva el 40% presentó dolor de espalda y el 4,1% fatiga, además en el artículo de Jiménez C et al ³² y Jaller J et al ³⁵ señalaron la presencia de adenomegalias retroarticulares en un rango del 8 al 55%.

Sin embargo, de acuerdo a lo planteado por Anwar S et al ³⁰ y Genderen F et al ⁶⁶ existe una diferencia de la sintomatología en niños y en los adultos ya que en los menores a 12 años fue más común la cefalea y los vómitos que la artralgia que duró como máximo 7 días, mientras que, en los adultos el característicamente presentaron artralgia persistiendo hasta los 180 días y las erupciones cutáneas.

En la tabla 4, se destacó las manifestaciones atípicas producidas por este virus que se clasificaron según al órgano o sistema que haya afectado como: a nivel neurológico se desencadena en una meningoencefalitis, encefalopatías, Síndrome Guillain Barré, parestesias y parálisis, en menor frecuencia se observa el síndrome cerebeloso, neuropatías, vasculitis, enfermedad sistémica, cefalea, que concuerda con el autor Acevedo N et al ¹⁰.

Así también Pérez G et al ¹¹ hace alusión a las manifestaciones a nivel ocular como la neuritis óptica, iridociclitis, retinitis y uveítis siendo la más frecuente. Además, este autor y Harter S et al ⁶⁷, indicó que la miocarditis es la manifestación más relevante a nivel cardiovascular, sin embargo, Pérez G et al ¹¹ también expresa otras manifestaciones como pericarditis, fallo cardiaco, arritmias, inestabilidad hemodinámica.

En la piel, se presenta dermatosis vesicular, lesiones ampollosas como señaló en el estudio de Muñoz C et al ⁴⁰, que de 18 neonatos y lactantes que presentaban síntomas similares a Fiebre *Chikungunya*, 12 de ellos mostraron lesiones tipo vesicular que evolucionaron hasta formar úlceras. Estas vesículas se caracterizaron por ser de color violáceas con ampollas, mientras que, las lesiones ulcerosas tuvieron bordes definidos con eritema y edema, acompañado de necrosis progresiva y secreciones en algunos casos.

Al igual que en el caso de Turtos L et al ⁴¹, los sitios donde se presentaron las úlceras fueron: la boca, cuero cabelludo, genitales, glúteos, zona perianal, pliegue poplíteo, abdomen y miembros inferiores. Por otro lado, los riñones pueden afectarse hasta desembocar en una insuficiencia renal aguda y rara vez en nefritis, y en el hígado provocar una hepatitis.

En la tabla 5, se estableció las complicaciones en el embarazo por transmisión vertical, que pueden ser prenatal o perinatal, de acuerdo al estudio de Foeller M et al ³, de las 416 parejas de madre e hijo, 150 adquirieron el virus durante el embarazo que representó el 36% de la totalidad de la población, sin embargo, la transmisión vertical prenatal ocurrió en 2 casos y 8 intraparto cuando existe ruptura placentaria. Además, el dolor articular tuvo un periodo más corta en las mujeres infectadas durante el embarazo en comparación con las mujeres fuera del embarazo.

Las complicaciones más habituales fueron: el sufrimiento fetal, la ruptura prematura de la membrana, anomalías congénitas, parto prematuro, retraso en el crecimiento como lo menciona Harter S et al ⁶⁷, Ferreira F et al ⁶⁸, Ortiz J et al ⁶⁹. El estudio de Corrales S et al ⁷⁰ concuerda con lo antes mencionado y agrega otras complicaciones como oligohidramnios, mortinatos, amenaza de parto pretérmino, pérdida fetal, complicaciones hematológicas, convulsiones, complicación cutánea, traqueomalacia, hidrocele congénita, pie zambo, infección y dificultad para respirar. En los 2 casos, los neonatos presentaron arritmias cardíacas, miocarditis.

En la tabla 6, se identificó los hallazgos de laboratorio independientemente de los factores demográficos, siendo la linfopenia como el indicador diferencial, ya que en este último es la trombocitopenia como lo mencionó Muñoz C et al ⁴⁰, de tal manera se relacionó con el autor Perret C et al ⁵¹, que de los 10 pacientes en fase aguda los 6 obtuvieron un recuento de linfocitos $< 1.000/\text{mm}^3$, añadiendo que un paciente presentó una elevación de transaminasas hepáticas, pero normal los leucocitos y proteína C reactiva, de acuerdo con los resultados de la investigación de Lozano R et al ³⁶, que mostraron linfopenia y transaminasas elevadas pero en este caso se evidenció leucopenia, Lactato Deshidrogenasa (LDH) y PCR elevada.

Por otra parte, en el estudio de Anwar S et al ³⁰, el 64% de los pacientes tenían un nivel reducido de hemoglobina y el 131 % una velocidad de sedimentación globular elevada y el 38% presentó valores anormales para los recuentos de glóbulos rojos (RBC) y para el conteo de glóbulos blancos (WBC) en el 63%.

En la tabla 7, se comparó las características de las pruebas confirmatorias empleadas para el diagnóstico de *Chikungunya*, clasificándolas en pruebas directas y pruebas indirectas. En la investigación de Martínez M et al ⁴⁹, dentro de las pruebas directas se encontraron los métodos moleculares como el aislamiento viral y la RT-PCR, las cuales se fundamentaron en la detección del virus a través de la amplificación de los fragmentos de ácidos nucleicos, que utilizaron de una muestra de suero, LCR, líquido sinovial o tejido.

La ventaja es que son pruebas con una sensibilidad del 99% como lo manifestó Mendoza I et al ⁷, ya que se detecta al virus en la fase temprana o aguda para la obtención de un diagnóstico oportuno, pero las desventajas es que son pruebas con un costo elevado, en fases

tardías se obtendrán resultados negativos, se trabaja en laboratorios de nivel de bioseguridad 3, y el tiempo de duración es de 1 a 7 horas.

Como lo señaló los autores Gómez M et al ²⁰ y Flórez L et al ⁷¹, dentro de las pruebas indirectas se encuentra ELISA y PRNT , que detectan los anticuerpos, se trabaja con suero y una ventaja es que son de menor costo en comparación con los métodos moleculares, el tiempo que dura es de 2 horas, se puede trabajar en laboratorio de nivel de bioseguridad 2, pero las desventajas que presenta es que no son destinadas para el diagnóstico temprano ya que el cuerpo puede tardar en desarrollar anticuerpos, o se puede obtener falsos negativos en pacientes con crioglobulinemia o falsos positivos en caso de infección por otros arbovirus produciéndose reacción cruzada.

CONCLUSIONES

El virus *Chikungunya* es transmitida por el vector del género *Aedes*, este se desarrolla en climas cálidos y templados especialmente en temporadas de lluvias, contagiando principalmente a la mujer y mayor riesgo las embarazadas debido a que también se puede transmitir de forma vertical de tal manera afecta al feto o neonato produciendo complicaciones severas que pueden llegar hasta la muerte fetal.

Los signos y síntomas de relevancia clínica son la artralgias, fiebre y exantema. Sin embargo, no se descarta el desarrollo de cefalea, escalofrío, mialgias, dolor de espalda, náuseas, vómitos, rash, poliartritis o conjuntivitis ya que el sistema inmunológico de cada ser humano se desenvuelve de forma diferente, de tal manera, algunos pueden presentar manifestaciones atípicas que no son muy comunes, pero del ser el caso es importante identificarlos.

Para un diagnóstico confirmatorio se debe asociar los datos demográficos, las características clínicas, hallazgos de laboratorio y las pruebas que certifican el resultado. Es de suma importancia saber a qué tiempo se desarrollada la sintomatología y la toma de muestra ya que es una ayuda referencial para aplicar la prueba correcta, de tal manera, en el diagnóstico temprano se encuentran los métodos moleculares, pero para un diagnóstico tardío se emplea los métodos serológicos, la calidad del examen depende del costo-beneficio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Martínez L, Torrado Y. Fiebre Chikungunya. Rev cubana med [Internet]. 2015 [Consultado 12 Jul 2021]; 54(1):74-96. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232015000100008
2. Organización Panamericana de la Salud. Fiebre Chikungunya [Internet]. Washington; 2014 [Consultado 12 Jul 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/file/36730/download?token=G8jLvDQr>
3. Foeller M, Nosrat C, Krystosik A, Noel T, Gérardin P, Cudjoe N et al. Chikungunya infection in pregnancy – reassuring maternal and perinatal outcomes: a retrospective observational study. BJOG [Internet]. 2020 [Consultado 13 Jul 2021]; 128(6):1077-1086. Disponible en: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1471-0528.16562>
4. Maguiña C. Fiebre de Chikungunya: Una nueva enfermedad emergente de gran impacto en la salud pública. Rev cubana med [Internet]. 2015 [Consultado 14 Jul 2021]; 26(1):55-59. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2015000100011
5. Organización Mundial de la Salud. Chikungunya [Internet]. Washington; 2020 [Consultado 15 Jul 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>
6. Ministerio de Salud Pública. Enfermedades transmitidas por vectores [Internet]. Ecuador; 2020 [Consultado 17 Jul 2021]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/07/ETV-SE-27.pdf>
7. Mendoza I, Ayala A. Utilidad de los métodos inmunológicos y moleculares para el diagnóstico del virus del *Chikungunya*. Cienc. innov. Salud [Internet]. 2017 [Consultado 20 Jul 2021]; 4(2): 1-11. Disponible en:

<http://revistas.unisimon.edu.co/index.php/innovacionsalud/article/download/2782/3483>

8. Organización Panamericana de la Salud. Número de casos reportados de *Chikungunya* en países o territorios de las Américas 2017 [Internet]. Columbia; 2017 [Consultado 20 Jul 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/2017-dic-22-phe-CHIKV-casos-se-51.pdf>
9. Stewart A, Ryan S, Kenneson A, King C, Abbott M, Guerrero A et al. La carga del dengue y la chikungunya en la costa sur de Ecuador: epidemiología, presentación clínica y filogenia de los primeros dos años de un estudio prospectivo. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2018 [Consultado 21 Jul 2021]; 98(5): 1444– 1459. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5953373/>
10. Acevedo N, Wagoner j, Rodríguez M, Rivera L, Landivar J, Pinsky P, et al. Zika virus, chikungunya virus, and dengue virus in cerebrospinal fluid from adults with neurological manifestations, Guayaquil, Ecuador. *Frontiers in Microbiology*. [Internet]. 2017 [Consultado 21 Jul 2021]; 8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00042/full>
11. Pérez G, Ramírez G, Pérez Y, Canela C. Fiebre de Chikungunya: enfermedad infrecuente como emergencia médica en Cuba. *MEDISAN* [Internet]. 2014 [Consultado 23 Jul 2021]; 18(6):852-853. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medisan/mds-2014/mds146o.pdf>
12. Álvarez M, Torres A, Torres A, Semper A, Romero D. Dengue, Chikungunya, Virus de Zika. Determinantes sociales. *Rev. Med. Electrón* [Internet]. 2018 [Consultado 24 Jul 2021]; 40(1):120-128. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242018000100013
13. Organización Panamericana de la Salud. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus Chikungunya en las Américas [Internet]. Washington: CDC;

- 2011 [Consultado 24 Jul 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/Preparacion-respuesta-introduccion-virus-chikungunya-Americas-2011.pdf>
14. Alarcón D, Ojeda R. Virus: pequeños gigantes que dominan el planeta. Revista ciencia [Internet]. 2018 [Consultado 26 Jul 2021]; 69(2): 65-67. Disponible en: https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/69_2/PDF/Virus.pdf
15. Negroni M, González M. Virus: Generalidades. Microbiología Estomatológica. 3era edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2017. p. 69-80. Disponible en: <https://www.berri.es/pdf/MICROBIOLOGIA%20ESTOMATOLOGICA%E2%80%9A%20Fundamentos%20y%20gu%C3%ADa%20pr%C3%A1ctica/9789500695572>
16. Bettie J. Virus [Internet]. Estados Unidos: National Human Genome Research Institute; [Consultado 27 Jul 2021]. Disponible en: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Virus>
17. Martínez M, Bermúdez V, Garicano C, Nuñez V, Palmar J et al. Infección por virus Chikungunya: de la clínica a la inmunopatogenia. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica [Internet]. 2017 [Consultado 27 Jul 2021]; 36(5): 132-143. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/559/55954942004.pdf>
18. Cervantes G, Sanjuán H. Virus Chikungunya: Características virales y evolución genética. Revista Uninorte [Internet]. 2016 [Consultado 30 Jul 2021]; 32(2): 292-301. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522016000200011
19. Jaramillo B. Infección por el virus del Chikungunya/Chikungunya virus infection. CES Medicina [Internet]. 2014 [Consultado 03 Agt 2021]; 28(2): 313-323. Disponible en:

<https://www.proquest.com/docview/1662034000/8520FD2DEE4243DFPQ/1?accountid=36757>

20. Gómez M, Isaza D. El virus Chikungunya en Colombia: Aspectos clínicos y epidemiológicos y revisión de la literatura/Chikungunya virus in Colombia: Clinical and epidemiological aspects, and literature review/Vírus chicungunha na colômbia: Aspectos clínicos y epidemiológicos e revisão da literatura. Iatreia [Internet]. 2016 [Consultado 05 Ago 2021]; 29(1): 65-74. Disponible en: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/el-virus-chikungunya-en-colombia-aspectos/docview/1775093576/se-2?accountid=36757>
21. Vences G, Trujillo L, Rodríguez E, Santiago M, Sánchez J, Castrejón A. Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus) (Diptera: Culicidae): conocimiento, criaderos frecuentes y distribución geográfica en la población de mochtitlán, guerrero; México. Entomología médica y forense [Internet]. 2017 [Consultado 06 Ago 2021]; 1(4): 578-585. Disponible en: http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2017/EMF/EM2462017_578-585.pdf
22. Izquieta L. Características Morfológicas y Factores Climatológicos y de Altitud que Influyen en la Presencia del Vector Aedes aegypti [Internet]. Ecuador: Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública-INSPI; 2020 [Consultado 06 Ago 2021]. Disponible en: <http://www.investigacionsalud.gob.ec/caracteristicas-morfologicas-y-factores-climatologicos-y-de-altitud-que-influyen-en-la-presencia-del-vector-aedes-aegypti/#>
23. Fajardo T, Gazeta R, Catalán D, Mello A, Silva A, Bertozzi A et al. Neonatal consequences of maternal exposure to the Chikungunya virus. Medicamento [Internet]. 2021 [Consultado 07 Ago 2021]; 100(17): 25695. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8084008/>
24. Acosta J, Navarro E, Martínez J. Enfermedad por el virus del Chikungunya. Salud Uninorte [Internet]. 2015 [Consultado 06 Ago 2021]; 31(3): 621-630. Disponible en:

<https://www.proquest.com/scholarly-journals/enfermedad-por-el-virus-del-chikungunya/docview/1806058139/se-2?accountid=36757>

25. Benítez Y, Cortés K, Montenegro E, García V, Díaz Á. Influencia de la temperatura ambiental en el mosquito aedes spp y la transmisión del virus del dengue. CES Medicina [Internet]. 2019 [Consultado 08 Agt 2021]; 33(1): 42-50. Disponible en: <https://www.proquest.com/docview/2239048522/C6DDD7C4B0DF4F11PQ/6?accountid=36757>
26. Burt F, Rolph M, Rulli N, Mahalingam S, Heise M. Chikungunya: A re-emerging virus. The Lancet [Internet]. 2012 [Consultado 13 Agt 2021]; 379(9816): 71-662. Disponible en: <https://www.proquest.com/docview/922561911/C173ACEEE2234C53PQ/1?accountid=36757>
27. Ritz N, Hufnagel M, Gérardin P. Chikungunya in Children. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2015 [Consultado 13 Agt 2021]; 34(7): 789-91. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26069950/>
28. McFee R, Vazquez M, Bush L. Enfermedades seleccionadas transmitidas por mosquitos: Chikungunya. *Revista Elsevier* [Internet]. 2018 [Consultado 13 Agt 2021]; 64(5): 157-276. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29530316/>.
29. Suhrbier A. Manifestaciones reumáticas del chikungunya: conceptos e intervenciones emergentes. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2019 [Consultado 13 Agt 2021]; 15(10): 597-611. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31481759/>.
30. Anwar S, Mourosi J, Khan M, Ullah M, Vanakker O, Hosen M. Brote de chikungunya en Bangladesh (2017): hallazgos clínicos y hematológicos. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2019 [Consultado 14 Agt 2021]; 20(14): 597-611. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32092073/>

31. Solis F, Soza O. Comportamiento clínico y epidemiológico del Chikungunya en pacientes del departamento de León ingresados al HEODRA, en el período comprendido de mayo 2015 a mayo 2016 [Internet]. Nicaragua: UNAN – LEÓN; 2016 [Consultado 14 Agt 2021]. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6871/1/240285.pdf>
32. Jiménez C, Sarmiento A, Chavarro R, Vásquez H, Lasprilla M, Montero E. Manifestaciones agudas en infección por virus del *Chikungunya* en una ciudad endémica de Colombia. Revista Cubana de Salud Pública [Internet]. 2020 [Consultado 15 Agt 2021]; 46(3): 1903. Disponible en: <https://scielosp.org/pdf/rcsp/2020.v46n3/e1903/es>
33. Rueda J, Santos A, Angarita J, Giraldo R, Saldarriaga E, Ballesteros J et al. Características demográficas y clínicas de pacientes de pacientes con *Chikungunya* de seis ciudades colombianas, 2014-2015. Emerg Microbes Infect [Internet]. 2019 [Consultado 15 Agt 2021]; 8(1): 1490-1500. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31631794/>
34. Cunha R, Trinta K. Virus de Chikungunya: aspectos clínicos y tratamiento - Una revisión. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2017 [Consultado 16 Agt 2021]; 112(8): 523-531. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28767976/>
35. Jaller J, Sánchez W, Santrich A, Sierra A, Fonseca Y, Parody A et al. Caracterización clínica de sujetos infectados con virus *Chikungunya* en una población del Caribe colombiano. Revista Colombiana de Reumatología [Internet]. 2016 [Consultado 16 Agt 2021]; 23(3):170- 176. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-colombiana-reumatologia-374-articulo-caracterizacion-clinica-sujetos-infectados-con-S0121812316300391>
36. Lozano R, González E, Murillo K, Sosa S, Delgado J, García L et al. Caracterización clínica de la enfermedad aguda y convaleciente de casos confirmados de chikungunya en Chiapas, S. México: un estudio transversal. Plos One [Internet]. 2017 [Consultado 17 Agt 2021]; 10(1). Disponible en: <https://journals-plos->

org.translate.goog/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0186923&_x_tr_sl=en
&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es-419&_x_tr_pto=nui,sc

37. Baxter V, Heise M. Inmunopatogénesis de alfavirus. Res. Virus Adv [Internet]. 2020 [Consultado 20 Agt 2021]; 107(1):315- 382. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32711733/>
38. Silva J, Ludwig C, Krystosik L, Oliveira E, Oliveira R, Carvalho R et al. Una revisión del alcance de la infección por el virus de Chikungunya: epidemiología, características clínicas, complicaciones de la cocirculación viral y control. Revista Elsevier [Internet]. 2018 [Consultado 21 Agt 2021]; 188(1):213- 224. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30195666/>
39. Sosa M, Orea M, Vásquez I, Palacios V, Morales G, Pérez L. Caracterización de las manifestaciones clínicas crónicas en pacientes con fiebre chikunguña. Rev Med Inst Mex Seguro Soc [Internet]. 2018 [Consultado 21 Agt 2021]; 56(3): 239-45. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2018/im183f.pdf>
40. Muñoz C, Castillo J, Salas D, Valderrama M, Rangel C, Vargas H et al. Manifestaciones mucocutáneas atípicas por fiebre por el virus del *Chikungunya* en neonatos y lactantes de Cúcuta, Los Patios y Villa del Rosario, Norte de Santander, Colombia, 2014. Biomédica [Internet]. 2016 [Consultado 22 Agt 2021]; 36(1): 77-378. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2760/3278>
41. Turtos L, Santiesteban O, Clemente O, Navarro S, Hernández S. Chikungunya: Una manifestación atípica en la piel. Reporte de un caso. Holguín [Internet]. 2019 [Consultado 22 Agt 2021]; 23(1): 288- 296. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812019000100288#:~:text=Pueden%20aparecer%20lesiones%20de%20tipo,del%20paciente%20a%20los%20medicamentos.
42. Ramos D, Montes A. El virus de Chikungunya: una realidad palpable. Revista CES

- Salud Pública [Internet]. 2016 [Consultado 23 Agt 2021]; 7(1): 72-78. Disponible en:
<https://www.proquest.com/docview/1842641282/6C7E978F9C654A56PQ/17?accountid=36757>
43. Valero N. Virus *Chikungunya* y Dengue: Dos virus para un mismo vector. *Kamera* [Internet]. 2014 [Consultado 24 Agt 2021]; 42(2): 87-88. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222014000200001
44. Amunet. Prueba rápida para la detección de *Chikungunya* IgG/IgM [Internet]. Washington; 2020 [Consultado 25 Agt 2021] Disponible en: https://www.amunet.com.mx/wp-content/uploads/2020/01/Manual_prueba_r%C3%A1pida_Chikungunya_IgG_IgM.pdf
45. Biotest. Casete de prueba rápida combinada de *Chikungunya* IgG / IgM [Internet]. Santa Fe: Advin Biotech; 2021 [Consultado 25 Agt 2021] Disponible en: <https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2021/03/Inserto-Advin-Chikungunya-IgG-IgM-ICKG-C42.pdf>
46. Ferreira S, Gómez V, Rodríguez H, Álvarez A, Vásquez C, Oviedo E et al. Guía para el manejo clínico de la enfermedad producida por el virus del *Chikungunya*. *Rev. Salud Pública Parag.* [Internet]. 2015 [Consultado 25 Agt 2021]; 5(1): 40-61. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/06/905206/40-61.pdf>
47. Cercenado E, Cantón R. Diagnóstico microbiológico de arbovirosis y robovirosis emergentes [Internet]. España: Seimc; 2013 [Consultado 25 Agt 2021]. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia47.pdf>

48. Martínez M, Pérez M, Sánchez M, Vázquez A. Diagnóstico microbiológico de las principales arbovirosis importadas y autóctonas. [Internet]. España: Seimc; 2020 [Consultado 25 Agt 2021]. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimiento68.pdf>
49. Isaza S, Maldonado J. Chikunguña. [Internet]. Colombia: EMSA; 2015 [Consultado 26 Agt 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/Memorias-chikunguna-bac.pdf>
50. Tapuy G. Caracterización clínica y de laboratorio en el diagnóstico de dengue en el Ecuador [Internet]. Riobamba: UNACH; 2020 [Consultado 26 Agt 2021]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/7407>
51. Perret C, Vizcaya C, Weitzel T, Rosas R, Dabanch J, Martínez C. Chikungunya, enfermedad emergente en América Latina. Descripción de los primeros casos en Chile. Rev. chil. Infectol [Internet]. 2018 [Consultado 27 Agt 2021]; 35(4): 413-419. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000400413
52. Altona S. Instrucciones de uso Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 [Internet]. Hamburgo: RealStar; 2017 [Consultado 28 Agt 2021]. Disponible en: https://www.altona-diagnostics.com/files/public/Content%20Homepage/-%2002%20RealStar/MAN%20-%20CE%20-%20ES/RealStar%20Chikungunya%20RT-PCR%20Kit%202.0_WEB_CE_ES-S01.pdf
53. Leao J, Marques C, Duarte A, de Almeida OP, Porter S, Gueiros L. Fiebre *Chikungunya*: implicaciones generales y para la salud bucal. Dis oral [Internet]. 2018 [Consultado 29 Agt 2021]; 24(1-2): 233-237. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29480628/>

54. Pouriayevali M, Rezaei F, Jalali T, Baniasadi V, Fazlalipour M et al. Casos importados de virus *Chikungunya* en Irán. BMC Infect Dis [Internet]. 2019 [Consultado 29 Ago 2021]; 1004. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12879-019-4637-4>
55. Jiménez A. Chikungunya virus. REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA LXXII [Internet]. 2015 [Consultado 03 Sep 2021]; 614(1): 189-193. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2015/rmc151zi.pdf>
56. Flughafenstr I. Chikungunya IgG capture ELISA [Internet]. Alemania: IBL International; 2015 [Consultado 04 Sep 2021]. Disponible en: https://node1.123dok.com/dt02pdf/123dok_es/003/216/3216920.pdf.pdf?X-Amz-Content-Sha256=UNSIGNED-PAYLOAD&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=7PKKQ3DUV8RG19BL%2F20211111%2F%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20211111T010029Z&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Expires=600&X-Amz-Signature=55a092961d8cafea78cbfe03ee05897f7b6abe1611d36e9a73ca32fe8fcede45
57. Campusano A. ELISA de captura de anticuerpos IgM e IgG contra el virus Chikungunya. ABC del laboratorio. [Internet]. 2014 [Consultado 04 Sep 2021]; 20(1): 3-4. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2014/myl143-4f.pdf>
58. Copro A. Prueba de neutralización de la reducción de placa [Internet]. Copro, la enciclopedia libre; 2021 [Consultado 04 Sep 2021]. Disponible en: https://copro.com.ar/Prueba_de_neutralizacion_de_la_reduccion_de_placa.html
59. Salas D. Protocolo de vigilancia en salud pública [Internet]. Colombia: Minsalud; 2017 [Consultado 06 Sep 2021]. Disponible en: http://www.saludpereira.gov.co/medios/Chikungu%C3%B1a_PROTOCOLO2017.pdf

60. Cáceres C, Ávila K. Caracterización de las complicaciones pos infección por virus Chikungunya en pacientes del servicio de urgencias del Hospital Salazar de Villeta Cundinamarca entre enero y junio del 2015 [Internet]. Bogotá: Universidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales; 2016 [Consultado 07 Sep 2021]. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/746/Chikungunya.pdf;jsessionid=6BC72207060F9405ED7B74890A33A0BF?sequence=1>
61. Langsjoen R, Rubinstein R, Kautz T, Auguste A, Erasmus J, Figueroa L et al. Características virológicas y clínicas moleculares de un brote de fiebre *Chikungunya* en La Romana, República Dominicana, 2014. PLoS Negl Trop Dis. [Internet]. 2016 [Consultado 07 Sep 2021]; 10(12): 1-19. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28030537/>
62. Huits R, Kort J, Berg R, Chong L, Tsoumanis A, Eggermont K et al. Infección por el virus de chikungunya en Aruba: diagnóstico, características clínicas y predictores de poliartralgia crónica post-chikungunya. Plos One Plos [Internet]. 2018 [Consultado 08 Sep 2021]; 1(13). Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0196630>
63. Monteiro J, Valverde J, Morais I, Souza C, Neto J, Melo M et al. Investigaciones epidemiológicas y clínicas durante un brote de *Chikungunya* en el estado de Rio Grande do Norte, Brasil. Plos One [Internet]. 2020 [Consultado 09 Sep 2021]; 50(1). Disponible en: https://journals-plos-org.translate.google/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0241799&_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es-419&_x_tr_pto=nui,sc
64. Bloch D, Roth N, Caraballo E, Muñoz J, Hunsperger E, Rivera A et al. Uso de investigaciones de grupos de hogares para identificar factores asociados con la infección por el virus Chikungunya y frecuencia de notificación de casos en Puerto Rico. PLoS Neglected Tropical Diseases [Internet]. 2016 [Consultado 10 Sep 2021]; 1(1). Disponible en: <https://www.proquest.com/docview/1840915700/24A871190BA346F1PQ/14?accountid=36757>

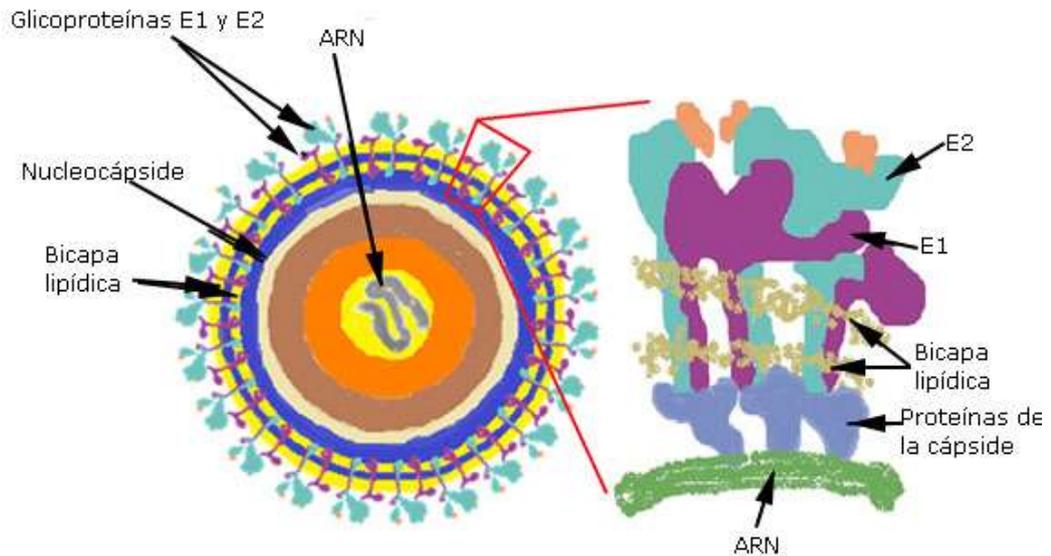
65. Macpherson C, Noel T, Fields P, Jungkind D, Yearwood K, Simmons M et al. Perspectivas clínicas y serológicas del brote de chikungunya de linaje asiático en Granada, 2014: un estudio observacional. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2016 [Consultado 13 Sep 2021]; 95(4): 890-893. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5062795/>
66. Genderen F, Krishnadath I, Son R, Grunberg M, Zijlmans W et al. Primer brote de chikungunya en Surinam; Características clínicas y epidemiológicas. *Plos One* [Internet]. 2016 [Consultado 13 Sep 2021]; 10(4). Disponible en: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004625>
67. Harter S. Virus Chikungunya. *Revista Médica de Rica y Centro América* [Internet]. 2014 [Consultado 14 Sep 2021]; 21(612):737-749. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2014/rmc144u.pdf>
68. Ferreira F, Silva A, Recht J, Guaraldo L, Moreira M, Siqueira A et al. Transmisión vertical del virus chikungunya: una revisión sistemática. *Plos One* [Internet]. 2021 [Consultado 14 Sep 2021]; 1(1). Disponible en: <https://www.proquest.com/docview/2517336633/24A871190BA346F1PQ/18?accountid=36757>
69. Ortiz J, Caballero J, Trujillo X, Ortiz M. Complicaciones obstétricas del dengue y la Chikungunya en la paciente embarazada: estudio, casos y controles. *Revista Médica del Instituto Mexicano de Seguro Social* [Internet]. 2019 [Consultado 16 Sep 2021]; 57(3): 162-169. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/4577/457762231008/html/#:~:text=La%20infecci%C3%B3n%20por%20chikungunya%20durante,previamente%20descrito%20en%20la%20literatura%2C>
70. Corrales S, Fonseca C, Salgado D. Infección por *Chikungunya* materno-fetal asociada con miocarditis neonatal. *Javierana* [Internet]. 2016 [Consultado 20 Sep

2021]; 57(2): 48-236. Disponible en:
<https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/vnimedica/article/view/17038>

71. Flórez L, Cardona J. Metanálisis sobre la utilidad de ELISA, PCR e inmunocromatográfica en el diagnóstico de *Chikungunya*. Rev Panam Salud Pública [Internet]. 2018 [Consultado 05 Oct 2021]; 41(3). Disponible en: <https://www.scielosp.org/article/rpsp/2017.v41/e163#>

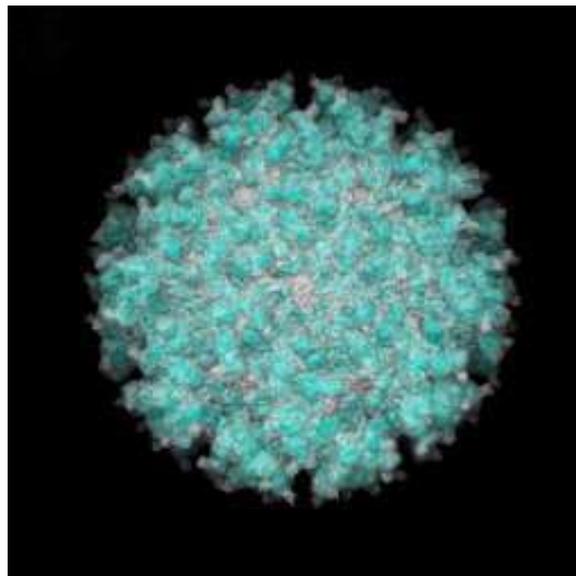
ANEXOS

Anexo 1. Estructura del virus *Chikungunya*.



Fuente: hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras".
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232015000100008

Anexo 2. Observación de la cápside del virus *Chikungunya* por cristalografía y microscopía electrónica.



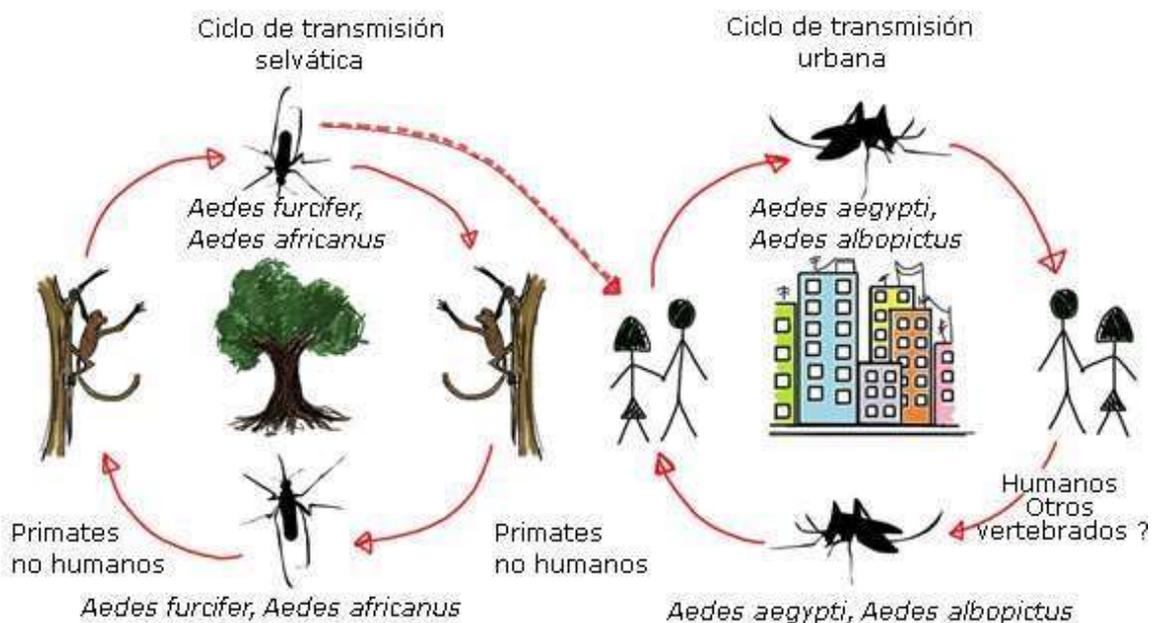
Fuente: cápside del virus. Obtenido de Encyclopædia Britannica ImageQuest.
https://quest.eb.com/search/132_1423372/1/132_1423372/cite

Anexo 3. Micrografía electrónica de barrido coloreado del mosquito *Aedes aegypti*.



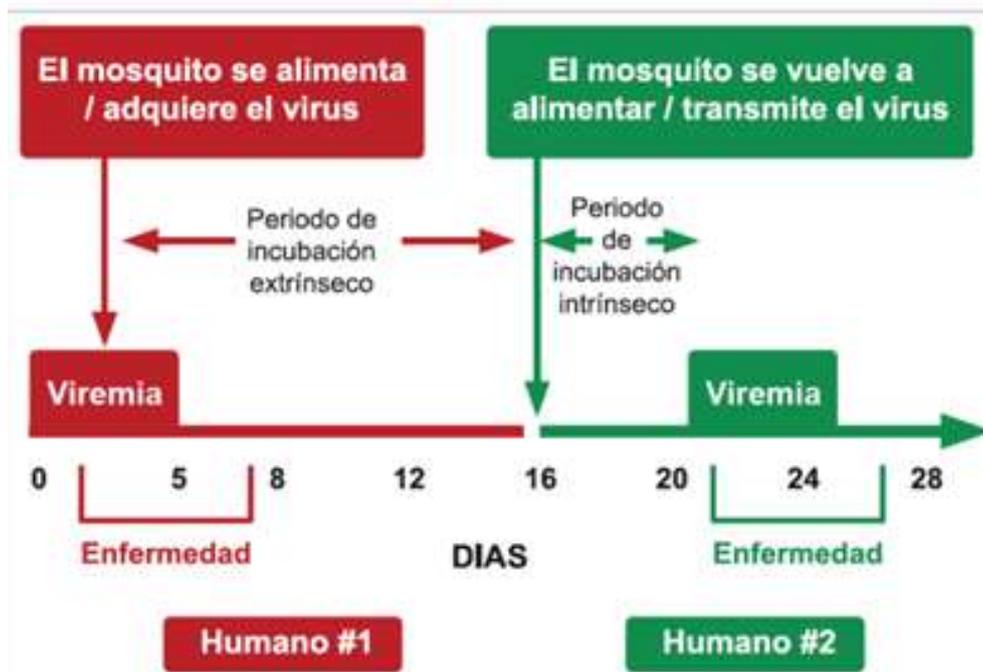
Fuente: mosquito *Aedes aegypti*, SEM. Obtenido de Encyclopædia Britannica ImageQuest. https://quest.eb.com/search/132_3048502/1/132_3048502/cite

Anexo 4. Tipos de ciclos de transmisión del virus *Chikungunya*



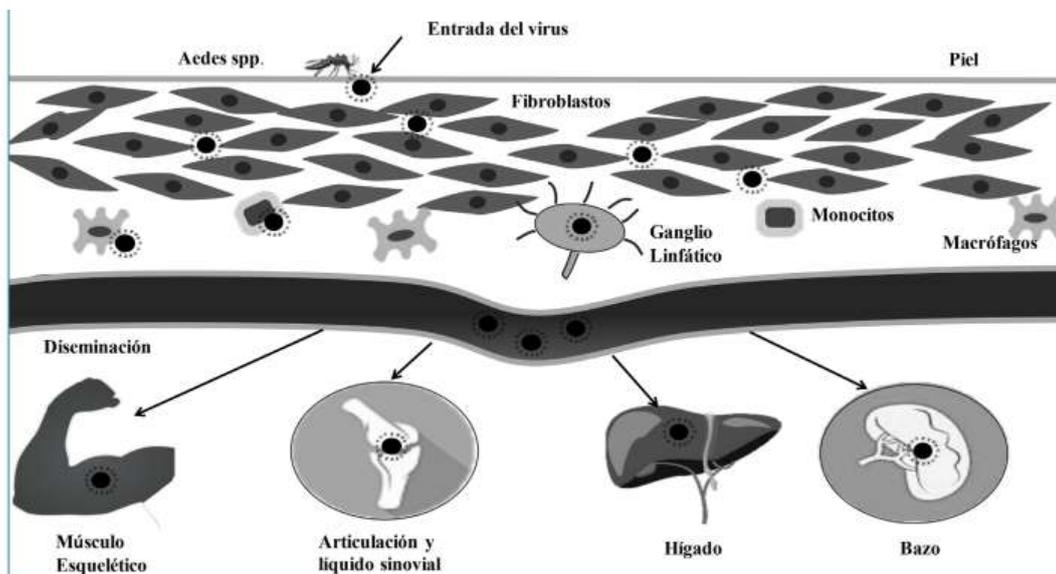
Fuente: fiebre *Chikungunya*. (2015). Obtenido de Rev cubana med. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232015000100008

Anexo 5. Periodos de incubación



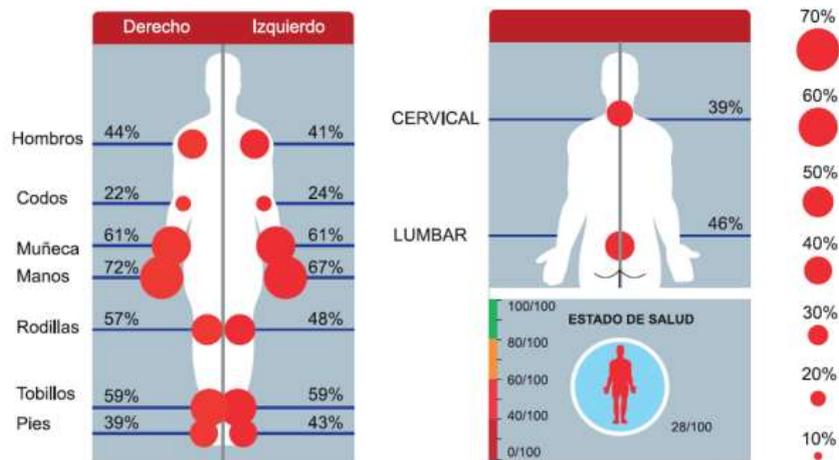
Fuente: Salud pública de Paraguay (2015).
<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/06/905206/40-61.pdf>

Anexo 6. Patogenia del virus



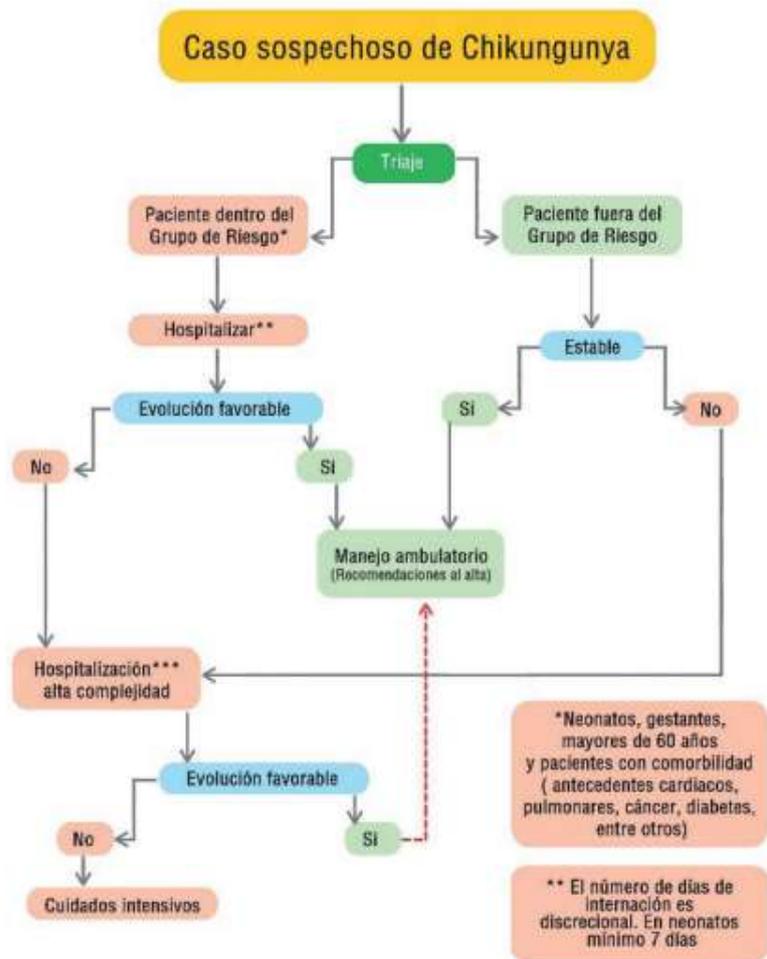
Fuente: Revista AVFT.
https://www.revistaavft.com/images/revistas/2017/avft_5_2017/5infeccion.pdf

Anexo 7. Localización frecuente de las artralgas



Fuente: Salud pública de Paraguay (2015). <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/06/905206/40-61.pdf>

Anexo 8. Procedimiento ante un caso sospechoso



Fuente: Salud pública de Paraguay (2015). <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/06/905206/40-61.pdf>

Anexo 9. Inserto de prueba inmunocromatográfica *Dengue- Chikungunya*



LINEAR Chemicals, S.L.

Dengue-CHIK cassette



PRESENTACION			
REF	4274240	Dengue - CHIK	40 Tests
Sólo para uso profesional de diagnóstico <i>in vitro</i>			

Dengue IgG/IgM-CHIK IgM

Prueba rápida para la detección simultánea y diferenciación de anti-virus del dengue IgG e IgM, y anti-virus IgM de Chikungunya (CHIK IgM) en suero, plasma o sangre total humano.
ONE STEP

FUNDAMENTO

LINEAR Dengue-CHIK cassette es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección simultánea y diferenciación del virus del dengue IgG e IgM, y virus IgM de Chikungunya (CHIK IgM) en suero, plasma o sangre total. Es para su uso profesional como prueba de cribado y como ayuda en el diagnóstico de la infección por los virus del dengue y el chikungunya. Cualquier muestra positiva con la prueba rápida Dengue IgG/IgM debe ser confirmada con un método de análisis alternativo.

Reactivo Dengue IgG/IgM: Panel izquierdo del dispositivo. La membrana de prueba consta de: 1) una almohadilla de conjugado de color rojo burdeos que contiene un conjugado de antígenos recombinantes del dengue con oro coloidal (conjugado dengue Ag) y un anticuerpo de control con oro coloidal, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de prueba (D y M) y una línea de control (línea C). La línea D está pre-recubierta con IgG anti-humano, la línea M está recubierta con anti-IgM humano, y la línea C está pre-recubierta con un anticuerpo de control.

Reactivo Chikungunya IgM: Panel derecho del dispositivo. La membrana de prueba consta de: 1) una almohadilla de color rojo burdeos que contiene un conjugado de antígenos con oro coloidal (conjugados CHIK Ag) y un anticuerpo de control conjugado con oro coloidal, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea T está pre-recubierta con anti-IgM humano, y la línea C está pre-recubierta con un anticuerpo de control.

Cuando un volumen adecuado de muestra se dispensa en el pocillo de muestra del cassette, la muestra migra por acción capilar a través de la membrana. El virus de dengue IgG, si está presente en la muestra, se unirá a los conjugados del dengue Ag. El inmunocomplejo se captura entonces sobre la membrana por el recubrimiento de IgG anti humano y se forma una línea D de color rojo burdeos que indica un resultado positivo del virus del dengue IgG. La ausencia de una línea D de color indica un resultado negativo del virus del dengue IgG.

Si el anti-virus de dengue IgM está presente en la muestra, se unirá a los conjugados del dengue Ag. El inmunocomplejo se captura entonces sobre la membrana por el pre-recubrimiento de anti humano IgM formando una línea M de color rojo burdeos que indica un resultado positivo del virus de dengue IgM. La ausencia de una línea M de color sugiere un resultado negativo del virus del dengue IgM.

Si el anti-CHIK IgM está presente en la muestra, se unirá a los conjugados CHIK Ag. El inmunocomplejo se captura entonces sobre la membrana por el pre-recubrimiento de anti humano IgM formando una línea T de color rojo burdeos que indica un resultado positivo de la prueba de IgM del virus Chikungunya. La ausencia de una línea T de color sugiere un resultado negativo de la prueba del virus Chikungunya IgM.

CONTENIDO DEL ENVASE

REF	4274240	40 Dengue-CHIK test device
		40 Tubos capilares para el Dengue IgG/IgM (5 µl)
		40 Goteros de plástico para la Prueba de CHIK IgM
		2 Diluyente de muestra (5 mL)

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-30°C. El dispositivo de ensayo es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el sobre, siempre que se mantenga en el sobre bien sellado hasta su uso. **NO CONGELAR.** No usar una vez superada la fecha de caducidad.

RECOLECCIÓN Y PREPARACION DE MUESTRAS

Plasma

- Tomar las muestras de sangre en un tubo azul, lavanda o verde (que contiene EDTA, citrato o heparina, respectivamente, en Vacutainer®) por venipuntura.
- Separar el plasma por centrifugación.
- Retirar con cuidado el plasma en un nuevo tubo de pre-etiquetado.

Suero

- Recoger las muestras de sangre en un tubo color rojo (sin anticoagulantes) por venipuntura.
- Dejar que la sangre se coagule.
- Separar el suero por centrifugación.
- Retirar con cuidado el suero en un nuevo tubo de pre-etiquetado.

Realizar el ensayo tan pronto como sea posible. Almacenar las muestras a 2-8°C si no se evaluará inmediatamente y durante un máximo de 5 días. Congelar las muestras a -20°C para un almacenamiento prolongado. Evitar congelar y descongelar rápidamente. Antes de la prueba, atemperar las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezclar suavemente. Si la muestra presenta partículas visibles, eliminar por centrifugación. No utilizar muestras que con lipemia, hemólisis o turbidez con el fin de evitar interferencias en la interpretación de los resultados.

Sangre

Obtener las muestras de sangre total por de puncamiento del dedo o por venipuntura. No usar sangre hemolizada. Conservar a (2-8°C) si no se ensayan inmediatamente. Ensayar las muestras dentro de las 24 horas.

EQUIPO ADICIONAL

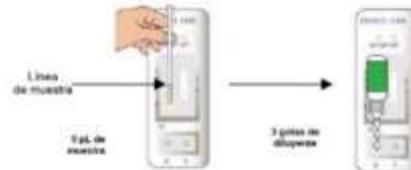
TECNICA

Atemperar, a temperatura ambiente (20-30°C) el dispositivo, la muestra y los controles antes de su uso.

- Sacar el dispositivo de la bolsa sellada, y colocarlo sobre una superficie limpia y nivelada. Rotular el dispositivo con la identificación del paciente o del control. Para obtener los mejores resultados realizar el ensayo antes de una hora.
- Dispensar la muestra.

Para la detección de Dengue IgG/IgM

Sostener el tubo capilar verticalmente, no superar la línea de muestra. Dispensar 1 gota de muestra (aprox. 5 µl) en el hoyo (S), evitar atrapar burbujas de aire. A continuación, manteniendo el frasco de diluyente verticalmente, agregar 3 gotas (aprox. 90 a 120 µl) en el pocillo (B).



Para la detección de CHIK IgM

Sostener el frasco de plástico verticalmente, dispensar 1 gota de muestra (aprox. 30-45 µl suero o 40-50 µl sangre) en el hoyo (S), evitar atrapar burbujas de aire. A continuación, manteniendo el frasco de diluyente verticalmente, agregar 1 gota (aprox. 30 a 40 µl).



QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485



LINEAR CHEMICALS S.L. Joaquín Costa 18 2ª planta, 08390 Montgat, Barcelona, SPAIN
Tel: (+34) 934 604 990 Fax: (+34) 934 603 435. website www.linear.es



Anexo 10. Prueba rápida para IgG/IgM *Chikungunya*

PRUEBA RÁPIDA PARA LA DETECCIÓN DE CHIKUNGUNYA IgG/IgM (Sangre/suero/plasma)

USO DESEADO

La prueba rápida IgG/IgM de *Chikungunya* es un inmunosayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM para *Chikungunya* en sangre, suero y plasma humano. Esta destinado a ser utilizado como prueba de detección y como ayuda en el diagnóstico de la infección por *Chikungunya* (CHK).

RESUMEN

Chikungunya es una rara infección viral transmitida por la picadura de un mosquito *Aedes aegypti* infectado. Se caracteriza por una erupción, fiebre y dolor articular severo (artralgias) que generalmente dura de tres a seis días. El nombre se deriva de la palabra Meindri que significa que se inicia hacia arriba en referencia a la prueba encurvada deusurrada como resultado de los síntomas de la enfermedad. Sucede durante la temporada de lluvias en las zonas tropicales del mundo, principalmente en África, el sudeste de Asia, el sur de la India y Pakistán. Los síntomas a menudo son clínicamente indistinguibles de los observados en la fiebre del dengue (FD) febril, se ha informado sobre infección dual de dengue y *Chikungunya* en la India.

A diferencia del dengue, las manifestaciones hemorrágicas son relativamente raras y con mayor frecuencia, la enfermedad de fiebres autolimitada. Por lo tanto, es muy importante distinguir clínicamente el dengue de la infección CHK. El diagnóstico de CHK es basado en análisis serológicos y aislamiento viral en cultivos o cultivo de tejidos. El inmunosayo IgM es el método de laboratorio más práctico.

PRINCIPIO

La prueba rápida *Chikungunya* IgG/IgM es un inmunosayo cualitativo basado en una membrana para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra *Chikungunya* en sangre, suero y plasma humano. La membrana es recubierta por anticuerpos IgG anti-humanos de ratón y anticuerpos IgM anti-humano de ratón en la región de prueba del cassette. Durante las pruebas, la muestra de sangre, suero o plasma reacciona con una sonda conjugada con un antígeno recombinante a *Chikungunya*.

La muestra negra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el IgG anti-humano de ratón y/o IgM anti-humano de ratón en la membrana y generar una línea de prueba. La presencia de esta línea de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para servir como un control del procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de control que indica que se ha agregado el volumen adecuado de la muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

REACTIVOS

La prueba contiene partículas recubiertas de antígeno de *Chikungunya* y anticuerpos IgG e IgM anti-humano impresos en la membrana.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional en diagnóstico *in vitro*. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No fumar, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Manipular todas las muestras como si llevaran agentes infecciosos. Tomar en cuenta las precauciones estandarizadas contra los peligros microbiológicos durante todos los procedimientos y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Usar ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén probando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Almacenar la prueba en la bolsa sellada, a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°C). La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados. La prueba se establa hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- No congelar.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.

RECOLECCIÓN DE MUESTRA

La prueba rápida de *Chikungunya* puede utilizarse con sangre (venopunción o capilar), suero o plasma humano.

Para recolectar muestras de sangre de capilar:

1. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón. Permita que se seque.
2. Masaje la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hasta la yema de los dedos anterior o medio.
3. Perforar la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera señal de la sangre.
4. Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
5. Añadir la muestra de sangre:
 - a. Mediante el uso de un gotero:
 - Vicione el bulbo del gotero y coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra, soltar el bulbo para recubrir la muestra. Evitar bulbuzo de aire.
 - A continuación, presione el bulbo para dispensar la sangre en la ventanilla de prueba.
 - b. Mediante gotas de dedo:
 - Colocar por gota la sangre en la ventanilla de prueba.

Para recolectar muestras de sangre por venopunción:

1. Tomar la muestra en base a los criterios establecidos.
2. Separar el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Solo muestras clínicas, no hemolizadas se pueden utilizar.
3. La prueba debe realizarse inmediatamente después de la recolección de muestras.
4. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados.

ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

- La prueba debe usarse a cabo inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Muestras de suero y plasma pueden almacenarse a 2-8°C hasta por 3 días.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de los -20°C. Toda la sangre obtenida por venopunción deberá almacenarse a 2-8°C si la prueba se ejecutará en un plazo de 2 días a partir de la recolección.
- No congelar muestras de sangre. Segurar el suero o el plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Usar solo muestras claras no hemolizadas.
- Toda la sangre obtenida por punción capilar debe probarse inmediatamente.
- Muestras congeladas deben estar completamente descongeladas y bien mezcladas antes de la prueba.
- Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.

MATERIALES

Materiales suministrados

- Casete de prueba
- Manual de instrucciones
- Buffer

Materiales requeridos, pero no suministrados

- Termómetro
- Lancetas (acción capilar)
- Alcohol 70% con alcohol

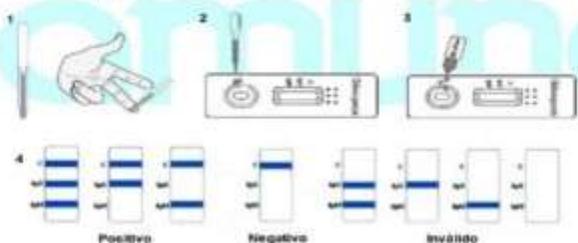
Materiales suministrados

- Centrífuga
- Tubo vacuotizer para toma de muestra por venopunción.

INSTRUCCIONES DE USO

Lavar los casetes, muestras y buffer a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de su uso.

1. Recolte 3 gotas de sangre o 2 gotas suero/plasma con el gotero.
2. Coloque la muestra (sangre/suero/plasma) en la ventanilla de muestra.
3. Agregue 1 gota de buffer.
4. Interprete los resultados. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) de resultados. Leer los resultados a los 10 minutos, no interprete los resultados después de 15 minutos.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

(Referir por favor al ejemplo de arriba)

IgG POSITIVO: Aparecen dos líneas de colores distintas. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de IgG.

IgM POSITIVO: Aparecen dos líneas de colores distintas. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de IgM.

IgG/IgM POSITIVO: Tres líneas de colores diferentes aparecen. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otras dos líneas de color deben estar en la región IgG e IgM.

NOTA: La intensidad del color en la región de línea (T) variará dependiendo de la concentración de anticuerpos a *Chikungunya* presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de rojo en la región de prueba debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Una línea aparece en la región de control (C). No aparece una línea roja o rosa aparente en la región IgG e IgM.

INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falta de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete. Si el problema persiste, suspenda el uso de la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región de control (C) es un control interno del procedimiento. Se confirma que el volumen de muestra fue suficiente y que el procedimiento fue correcto. No se suministran controles positivos o negativos con esta prueba. Sin embargo, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar el comportamiento adecuado de la prueba.

LIMITACIONES

1. La dirección para el uso y la interpretación del resultado debe ser estricta cuando se prueba la presencia de anticuerpos contra *Chikungunya* en suero, plasma o sangre.
2. La prueba rápida de *Chikungunya* IgG/IgM (sangre, suero, plasma) se limita a la detección cualitativa de anticuerpos contra *Chikungunya* en suero, plasma o sangre humano. La intensidad de la mejor banda no tiene correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.
3. Un resultado negativo para un sujeto individual indica ausencia de anticuerpos detectables de *Chikungunya*. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición al *Chikungunya*.
4. Puede ocurrir un resultado negativo en la cantidad de anticuerpos *Chikungunya* que se detectan que no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge una muestra.
5. Los resultados obtenidos con esta prueba solo deben interpretarse junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

VALORES ESPERADOS

La prueba rápida de *Chikungunya* IgG/IgM (Sangre, suero, plasma) se ha comparado con la prueba comercial líder *Chikungunya* IgG/IgM EIA. La correlación entre estos dos sistemas es al menos 92%.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Sensibilidad y Especificidad

Un total de 93 muestras fueron probadas por la prueba rápida de *Chikungunya* IgM/IgG y por un método comercial EIA *Chikungunya* IgM. La comparación para todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla:

Método	Resultados IgM EIA		Resultados Totales
	Positivo	Negativo	
Prueba Rápida <i>Chikungunya</i>	65	0	65
	Positivo	21	28
	Negativo	21	93
Resultados Totales			

Sensibilidad Relativa: 96.3% (95%CI: *81.0%-99.0%)

Especificidad Relativa: 99.9% (95%CI: *86.7%-100%)

Precisión Global: 92.5% (95%CI: *85.1%-99.9%)

*Intervalos de confianza

Un total de 68 muestras de los susceptibles fueron probadas por el *Chikungunya* IgG/IgM prueba rápida y por un comercial *Chikungunya* IgG EIA kit. La comparación para todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla:

Método	Resultados IgG EIA		Resultados Totales
	Positivo	Negativo	
Prueba Rápida <i>Chikungunya</i>	33	1	34
	Positivo	32	34
	Negativo	33	68
Resultados Totales			

Sensibilidad Relativa: 94.3% (95%CI: *80.2%-99.3%)

Especificidad Relativa: 97.0% (95%CI: *84.2%-99.9%)

Precisión Global: 95.6% (95%CI: *87.6%-99.6%)

*Intervalos de confianza

Precisión

Intra-ensayo

La precisión interna se ha determinado mediante el uso de 10 repeticiones de cinco muestras, un negativo, un medio positivo de IgM de *Chikungunya*, un positivo de alto de IgM, un medio positivo de IgG de *Chikungunya*, un positivo de alto de IgG de *Chikungunya*. Los valores positivos se identificaron correctamente el 100% del tiempo.

Reproducibilidad

Inter-ensayo

La precisión se ha determinada por 10 repeticiones independientes en las mismas cinco muestras: un negativo, un *Chikungunya* IgM medio positivo, un *Chikungunya* IgM positivo alto, un *Chikungunya* IgG medio positivo y un *Chikungunya* IgG alto positivo. Se probaron tres veces diferentes de la prueba rápida *Chikungunya* (sangre, suero, plasma) durante un período de 10 días. Las muestras fueron correctamente identificadas el 100% del tiempo.

Reactividad cruzada

El casete de prueba rápida IgG/IgM de *Chikungunya* (suero / plasma) ha sido probado por H1N1, RF, HBeAg, HBeAb, HBcAb, e1/e2, VEG, H1y010, MONO, CMV, Rubéola y muestras positivas de TOXO. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

[REFERENCIAS]

1. Chikungunya virus infection: an overview, Claudia Caglioti, et al., New Microbiology, Vol. 36, 211-227, 2013.
2. CDC Chikungunya Fact Sheets, www.cdc.gov/chikungunya (2015).

[INDICE DE SIMBOLOS]

	Atención, ver instrucciones de uso		Pruebas por equipo		
	Solo para uso de diagnóstico in vitro		Usar por		No reutilizar
	Almacenar entre 2 y 30°C		Numero de lote	REF	Catálogo ICMA-435
	No utilizar si el paquete está dañado				



Fuente: aument. https://www.amunet.com.mx/wp-content/uploads/2020/01/Manual_prueba_r%C3%A1pida_Chikungunya_IgG_IgM.pdf

Anexo 11. Prueba de cassette combinada IgG/IgM

ADVIN **Cassete de prueba rápida IgG/IgM Ab del virus del Zika (sangre entero/plasma)**
Ficha Técnica
REF: IZGM-C42 - Español

Este producto está diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika en sangre total, suero o plasma.

USO PREVIADO
 El cassette de prueba rápida IgG/IgM Ab del virus del Zika (sangre entero/plasma) es un instrumento diagnóstico para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika en sangre humana suero o plasma humano contra el virus del Zika.

INDICACIONES
 El virus del Zika (ZIKV) es un flavivirus transmitido por mosquitos que puede causar una enfermedad leve o moderada en la mayoría de las personas. En 1952, se descubrió el virus del Zika y desde entonces se han reportado brotes de infección en personas de una variedad de países de África y partes de Asia. En 2015, el ZIKV emergió por primera vez fuera de África y desde entonces se ha extendido a través de América Latina y el Caribe. En 2016, el ZIKV se extendió a Europa y partes de Asia. El ZIKV está asociado con complicaciones neurológicas graves, como la mielitis, la meningitis y la síndrome de Guillain-Barré, así como con complicaciones obstétricas, como la microcefalia congénita y la pérdida de audición.

PRINCIPIO
 El cassette de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre entero/plasma) es un instrumento diagnóstico que utiliza un principio de inmunocromatografía lateral de flujo para detectar anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika. Durante la prueba, la muestra de sangre se aplica a una línea de control (C) y una línea de prueba (T). Durante la prueba, la muestra reacciona con partículas inmunitarias que contienen anticuerpos IgG e IgM, formando un complejo inmune que se mueve a lo largo de la línea de prueba de IgG. En el control, IgM se mueve a lo largo de la línea de prueba de IgM. Los anticuerpos IgG contra el virus del Zika reaccionan con partículas inmunitarias que contienen anticuerpos IgM, formando una línea de prueba de IgM. Este complejo inmune se mueve a lo largo de la línea de prueba de IgM. Los anticuerpos IgM contra el virus del Zika reaccionan con partículas inmunitarias que contienen anticuerpos IgG, formando una línea de prueba de IgG. Este complejo inmune se mueve a lo largo de la línea de prueba de IgG.

REACTIVOS
 El cassette de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre entero / suero / plasma) es un instrumento diagnóstico que utiliza un principio de inmunocromatografía lateral de flujo para detectar anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika.

PRECAUCIONES
 Este producto está diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika en sangre humana suero o plasma humano.

RECOMENDACIONES
 Este producto está diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika en sangre humana suero o plasma humano.

RECOMENDACIONES Y PREPARACION DE MUESTRAS
 Este producto está diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika en sangre humana suero o plasma humano.

mantener a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8 ° C hasta por 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben conservarse por debajo de -20 ° C. La sangre entera recolectada por centrifugación debe almacenarse a 2-8 ° C en la oscuridad.

Interpretación de resultados:
 1. Línea de control y temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
 2. Si las muestras están anormales, deben almacenarse de acuerdo con las especificaciones del fabricante para el transporte de agentes biológicos.

Materiales proporcionados
 • Cassete
 • Fichas Técnicas

Materiales requeridos pero no proporcionados
 • Microscopio

Condiciones de almacenamiento
 • Conservar a temperatura ambiente (2-8 ° C) hasta por 3 días.
 • Conservar a largo plazo a -20 ° C o inferior.

Interpretación de resultados:
 1. Línea de control y temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
 2. Si las muestras están anormales, deben almacenarse de acuerdo con las especificaciones del fabricante para el transporte de agentes biológicos.

Interpretación de resultados:
 1. Línea de control y temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
 2. Si las muestras están anormales, deben almacenarse de acuerdo con las especificaciones del fabricante para el transporte de agentes biológicos.

Interpretación de resultados:
 1. Línea de control y temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
 2. Si las muestras están anormales, deben almacenarse de acuerdo con las especificaciones del fabricante para el transporte de agentes biológicos.

[CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN]
 Sensibilidad y especificidad:
 El cassette de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre total / suero / plasma) se validó con muestras voluntarias de una población de individuos voluntarios y vacunados. Los resultados fueron confirmados por una prueba ELISA comercial para el virus del Zika. Información por el virus del Zika para los resultados de las pruebas de IgM / IgG ELISA.

Cassete de prueba rápida de Zika (sangre total / suero / plasma)	POSITIVO		
	IgM	IgG	Negativo
Positivo	100%	100%	0%
Negativo	0%	0%	100%

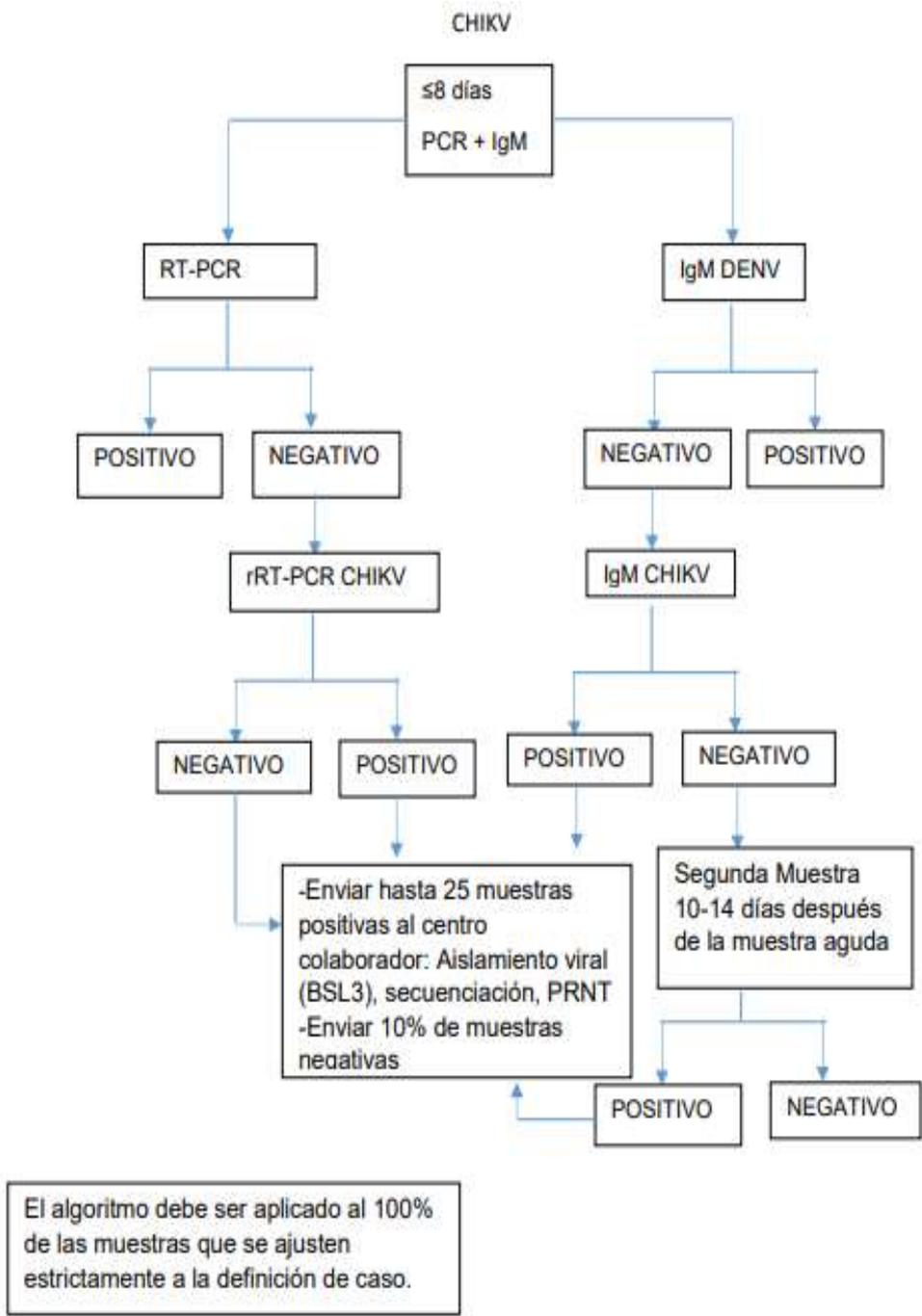
Interpretación de resultados:
 1. Línea de control y temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
 2. Si las muestras están anormales, deben almacenarse de acuerdo con las especificaciones del fabricante para el transporte de agentes biológicos.

Interpretación de resultados:
 1. Línea de control y temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
 2. Si las muestras están anormales, deben almacenarse de acuerdo con las especificaciones del fabricante para el transporte de agentes biológicos.

Interpretación de resultados:
 1. Línea de control y temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
 2. Si las muestras están anormales, deben almacenarse de acuerdo con las especificaciones del fabricante para el transporte de agentes biológicos.

Fuente: avin biotech. <https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2021/03/Inserto-Advin-Chikungunya-IgG-IgM-ICKG-C42.pdf>

Anexo 12. Algoritmo de para el diagnóstico del virus *Chikungunya*



Fuente: Universidad de San Carlos de Guatemala.
http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_10171.pdf

Anexo 13. Procedimiento para el diagnóstico mediante RT-PCR

Test diagnóstico mediante RT-qPCR

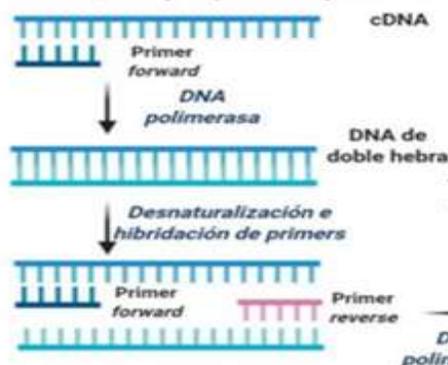
1 Recolección de muestra

Se realiza la toma de muestra por venopunción en tubo sin anticoagulante

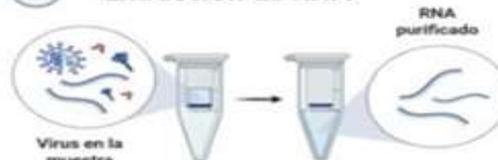


4 Amplificación

Fase de amplificación del cDNA. Se unen los primers específicos, necesarios para que la enzima DNA polimerasa sintetice la hebra de DNA. Los primers se unen al gen que se va a amplificar. Si el gen no está en la muestra, no hay amplificación y tenemos un negativo.

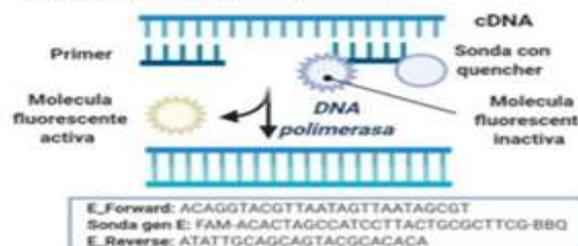


2 Extracción de RNA



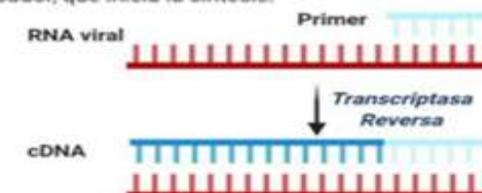
5 Detección en tiempo real

Uno de los métodos de detección habituales utiliza una sonda con un compuesto fluorescente y un *quencher* que bloquea la fluorescencia. La actividad exonucleasa de la DNA polimerasa rompe la sonda durante la síntesis, liberando el compuesto fluorescente.



3 Retrotranscripción

Síntesis de un DNA complementario al RNA que hemos purificado previamente. La síntesis se realiza añadiendo una enzima transcriptasa inversa o reversa y un *primer* o cebador, que inicia la síntesis.



6 Resultados

Si hay RNA viral en la muestra, se liberan las moléculas fluorescentes activas de la sonda y la fluorescencia aumenta. Los pacientes positivos en *Chikungunya*, gen E1 cruzan el umbral de fluorescencia <38 ciclos



Anexo 14. Inserto de RT-PCR *Chikungunya*



Instrucciones de uso

RealStar[®]

Chikungunya RT-PCR Kit 2.0

01/2017 ES

RealStar[®]

RealStar®

Chikungunya RT-PCR Kit 2.0

Para utilizar con

Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
LightCycler® 480 Instrument II (Roche)



012013

96

01 2017

altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22787 Hamburgo

Contenido

1.	Uso indicado	6
2.	Componentes del kit	6
3.	Almacenamiento	6
4.	Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados	7
5.	Información general	8
6.	Descripción del producto	9
6.1	Instrumentos de PCR en tiempo real	10
7.	Advertencias y precauciones	11
8.	Procedimiento	12
8.1	Preparación de las muestras	12
8.2	Preparación de la Master Mix	14
8.3	Preparación de la reacción	15
9.	Programación de los instrumentos de PCR en tiempo real	16
9.1	Configuración	16
9.2	Detectores de fluorescencia	17
9.3	Perfil de temperatura y detección de fluorescencia	17
10.	Análisis de datos	18
10.1	Validez de las series de pruebas diagnósticas	18
10.1.1	Serie válida de pruebas diagnósticas	18
10.1.2	Serie no válida de pruebas diagnósticas	19
10.2	Interpretación de los resultados	19
10.2.1	Análisis cualitativo	19

11.	Evaluación de rendimiento	20
11.1	Sensibilidad analítica	20
11.2	Especificidad analítica.....	21
11.3	Precisión	22
12.	Limitaciones	23
13.	Control de calidad	24
14.	Servicio técnico	24
15.	Bibliografía	24
16.	Marcas comerciales e información legal	25
17.	Explicación de los símbolos	26

1. Uso indicado

El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico del virus de chikunguña (CHIKV).

2. Componentes del kit

Color tapa	Componente	Número de viales	Volumen [µl/vial]
Azul	Master A	8	60
Violeta	Master B	8	180
Verde	Internal Control	1	1000
Rojo	Positive Control	1	250
Blanco	Water (PCR grade)	1	500

Internal Control = Control interno

Positive Control = Control positivo

Water (PCR grade) = Agua indicada para PCR

3. Almacenamiento

- El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se envía en hielo seco. Los componentes del kit deben llegar congelados. Si uno o más componentes no estuvieran congelados en el momento de la recepción, o si la integridad de los tubos se ha puesto en peligro durante el envío, póngase en contacto con Altona Diagnostics GmbH para obtener ayuda.
- Todos los componentes deben almacenarse entre -25 y -15 °C tras su llegada.
- Debe evitarse la descongelación y congelación reiterada de los reactivos Master (más de dos veces), ya que podría repercutir en el rendimiento del producto. Los reactivos deben congelarse en alícuotas si se van a utilizar de manera intermitente.
- El almacenamiento entre +2 y +8 °C no debe superar un período de dos horas.
- Proteja Master A y Master B de la luz.

4. Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados

- Instrumento adecuado de PCR en tiempo real (ver capítulo 6.1, Instrumentos de PCR en tiempo real)
- Sistema o kit de extracción de ácido nucleico adecuados
- Centrifuga de mesa con rotor para tubos de reacción de 2 ml
- Centrifuga con rotor para placas de microtitulación, si se utilizan placas de reacción de 96 pocillos
- Agitador vortex
- Placas de reacción de 96 pocillos adecuadas o tubos de reacción con el material de cierre (óptico) correspondiente
- Pipetas (ajustables)
- Puntas de pipetas con filtro (desechables)
- Guantes sin talco (desechables)

NOTA

i

Asegúrese de que todos los instrumentos utilizados se instalen, se calibren, se comprueben y se mantengan conforme a las instrucciones y recomendaciones del fabricante.

i

Se recomienda encarecidamente utilizar el rotor de 72 pocillos con los tubos de reacción de 0,1 ml adecuados, si se utiliza el Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) o el Rotor-Gene® Q 5/6 plex (QIAGEN).

5. Información general

El virus de chikunguña (CHIKV) es un virus transmitido por artrópodos (*arbovirus*), endémico en zonas de África, Asia, Sudamérica y Centroamérica. Se han descrito casos de viajeros que han regresado de estos lugares en todo el mundo. El CHIKV pertenece al género *Alphavirus* de la familia *Togaviridae*. Es un virus pequeño, encapsulado y esférico, con un genoma de ARN monocatenario positivo de aproximadamente 12 kpb.

Las infecciones por CHIKV en humanos se caracterizan por fiebres, sarpullidos y poliartralgia, que pueden progresar hasta derivar en una enfermedad crónica. Los síntomas son similares a los de la malaria y a los de la fiebre del dengue, que suelen ser coendémicos. Por tanto, un diagnóstico de laboratorio rápido y preciso es esencial para la gestión del caso.

Se supone que el CHIKV evolucionó en África (se aisló por primera vez en Tanzania, en 1952), donde se mantiene en un ciclo de transmisión selvática, e implica a primates y varias especies de mosquitos *Aedes*, y se extendió a Asia. Los cambios globales, como el cambio climático o la movilidad, favorecen la expansión del arbovirus y llevan a un mayor número de enfermedades causadas por el mismo. Por este motivo, los diagnósticos de laboratorio y la supervisión de estos patógenos son cada vez más importantes.

NOTA

i

Debido a la evolución molecular relativamente rápida de los virus de ARN, hay un riesgo inherente para cualquier sistema de análisis basado en RT-PCR de que la acumulación de mutaciones con el tiempo pueda provocar resultados de falsos negativos.

6. Descripción del producto

El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico del virus de chikunguña (CHIKV). El test incluye un sistema de amplificación heterólogo (Control interno) para identificar una posible inhibición de RT-PCR y para confirmar la integridad de los reactivos del kit.

La tecnología de RT-PCR utiliza la transcriptasa inversa (RT) para convertir el ARN en ADN complementario (ADNc), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de secuencias diana específicas y sondas específicas para detectar el ADN amplificado. Las sondas están marcadas con fluorocromos (reporter) y captore de fluorescencia (quencher)

Las sondas específicas para el ARN de CHIKV están marcadas con el fluorocromo FAM™. La sonda específica para el Control interno está marcada con el fluorocromo JOE™.

El uso de sondas unidas a diferentes fluorocromos permite la detección paralela del ARN específico de CHIKV y del Control interno en los canales de detección correspondientes del instrumento de PCR en tiempo real.

El test consta de tres procesos en un solo tubo:

- Transcripción inversa del ARN diana y del Control interno en ADNc
- Amplificación de PCR de objetivo y Control interno en ADNc
- Detección simultánea de amplicones de PCR mediante sondas marcadas con fluoróforos

El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se compone de:

- Dos reactivos Master (Master A y Master B)
- Control interno
- Control positivo
- Agua indicada para PCR

Master A y Master B contienen todos los componentes (tampón de PCR, transcriptasa inversa, ADN polimerasa, sal de magnesio, cebadores y sondas) para permitir la transcripción inversa, la amplificación mediante la PCR y la detección del ARN específico de CHIKV, y el Control interno en una configuración de reacción.

6.1 Instrumentos de PCR en tiempo real

El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se desarrolló y se validó para su uso con los siguientes instrumentos de PCR en tiempo real:

- Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
- VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

7. Advertencias y precauciones

Lea las instrucciones de uso detenidamente antes de utilizar el producto.

- Antes del primer uso, compruebe los siguientes puntos respecto al producto y sus componentes:
 - Integridad
 - Si está completo en cuanto a número, tipo y volumen (ver capítulo 2. Componentes del kit)
 - Etiquetaje correcto
 - Si está congelado al llegar
- El uso de este producto está limitado al personal instruido especialmente y formado en las técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- Las muestras deben tratarse siempre como si fueran infecciosas o biopeligrosas conforme a los procedimientos de seguridad en el laboratorio.
- Utilice guantes protectores desechables sin talco, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule muestras.
- Evite la contaminación microbiana y con nucleasas (DNasas/RNasas) de la muestra y de los componentes del kit.
- Utilice siempre puntas de pipetas desechables libres de DNasas/RNasas con barreras de aerosol.
- Utilice siempre guantes protectores desechables sin talco cuando manipule los componentes del kit.
- Utilice áreas de trabajo separadas para (i) la preparación de las muestras, (ii) la configuración de reacción y (iii) las actividades de amplificación/detección. El flujo de trabajo en el laboratorio debe realizarse de manera unidireccional. Utilice siempre guantes desechables en cada área y cámbieselos antes de acceder a un área distinta.
- Utilice suministros y equipamiento en cada área de trabajo separada y no los traslade de un área a otra.

- Almacene el material positivo o presuntamente positivo separadamente de todos los demás componentes del kit.
- No abra los tubos o placas de reacción después de la amplificación, para evitar la contaminación con amplicones.
- Pueden utilizarse controles adicionales utilizando de acuerdo con las pautas o requisitos de las regulaciones locales, estatales y/o federales, o de organizaciones de acreditación.
- No esterilice en el autoclave los tubos de reacción después de la PCR, ya que no degradará el ácido nucleico amplificado y conllevará el riesgo de contaminar la zona del laboratorio.
- No utilice componentes del kit cuya fecha de caducidad.
- Descarte muestras y residuos del test conforme a las regulaciones locales de seguridad.

NOTA

El test se diseñó para compensar posibles mutaciones futuras. Sin embargo, en el caso de que las cepas evolucionen y acumulen mutaciones, podría ser necesaria una actualización de los conjuntos de cebadores/sondas.

8. Procedimiento**8.1 Preparación de las muestras**

El ARN extraído es el material inicial para el RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0.

La calidad del ARN extraído tiene una repercusión fundamental en el rendimiento del test. Debe garantizarse que el sistema utilizado para la extracción de ácido nucleico sea compatible con la tecnología de PCR en tiempo real. Los siguientes kits y sistemas son adecuados para la extracción de ácido nucleico:

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)
- QIAasymphony® (QIAGEN)

- NucliSENS® easyMag® (bioMérieux)
- MagNA Pure 96 System (Roche)
- m2000sp (Abbott)
- Maxwell® 16 IVD Instrument (Promega)
- VERSANT® kPCR Molecular System SP (Siemens Healthcare)

También pueden resultar adecuados sistemas alternativos de extracción de ácido nucleico.

La idoneidad del procedimiento de extracción de ácido nucleico para su uso con el RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 debe validarla el usuario.

Si utiliza un procedimiento de preparación de muestras basado en centrifugación (spin column, en inglés) que incluya tampones de lavado que contengan etanol, se recomienda encarecidamente seguir un paso de centrifugación adicional durante 10 minutos a aproximadamente 17 000 x g (~13 000 rpm), utilizando un tubo de recogida nuevo, antes de la elución del ácido nucleico.

PRECAUCIÓN

Si su sistema de preparación de pruebas utiliza tampones de lavado que contengan etanol, asegúrese de eliminar cualquier resto de etanol antes de la elución del ácido nucleico. El etanol es un potente inhibidor de la PCR en tiempo real.



El uso de ARN portador es crucial para la eficiencia de la extracción y para la estabilidad del ácido nucleico extraído.

Si necesita más información o asistencia técnica en relación con el pretratamiento y la preparación de muestras, póngase en contacto con nuestro Servicio técnico (ver capítulo 14. Servicio técnico).

8.2 Preparación de la Master Mix

Todos los reactivos y muestras deben descongelarse completamente, mezclarse (pipeteando o aplicando un vortex suave) y centrifugarse brevemente antes de su uso.

El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 contiene un Control interno heterólogo, que puede utilizarse como control de inhibición de RT-PCR o para controlar el procedimiento de preparación de muestras (extracción de ácido nucleico) y como control de inhibición de RT-PCR.

- ▶ Si se utiliza el Control interno como control de inhibición de RT-PCR, pero no como control para el procedimiento de preparación de muestras, prepare la Master Mix de acuerdo con el siguiente esquema de pipeteo:

Número de reacciones (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Internal Control (Control interno)	1 µl	12 µl
Volumen de Master Mix	21 µl	252 µl

- ▶ Si se utiliza el Control interno como control para el procedimiento de preparación de muestras y como control de inhibición de RT-PCR, añada el Control interno durante el procedimiento de extracción de ácido nucleico.
- ▶ Sin importar que método o sistema se utilice para la extracción de ácido nucleico, el Control interno **no debe** añadirse directamente a la muestra. El Control interno debe añadirse siempre a la mezcla de muestra y tampón de lisis. El volumen del Control interno que debe añadirse dependerá siempre y únicamente del volumen de la elución. Representa el 10 % del volumen de la elución. Por ejemplo, si se va a eluir el ácido nucleico en 60 µl de tampón de elución o agua, deberán añadirse 6 µl de Control interno por muestra a la mezcla de muestra/tampón de lisis.

- ▶ Si se añadió el Control interno durante el procedimiento de preparación de muestras, configure la Master Mix conforme al siguiente esquema de pipeteo:

Número de reacciones (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Volumen de Master Mix	20 µl	240 µl

PRECAUCIÓN



Si se añadió el Control interno durante el procedimiento de preparación, al menos el control negativo debe incluir el Control interno.



Sin importar que método o sistema se utilice para la extracción de ácido nucleico, no añada nunca el Control interno directamente a la muestra.

8.3 Preparación de la reacción

- ▶ Pipetee 20 µl de la Master Mix en cada pocillo necesario de una placa de reacción óptica de 96 pocillos o un tubo de reacción óptica.
- ▶ Añada 10 µl de la muestra (eluido de la extracción de ácido nucleico) o 10 µl de los controles (control positivo o negativo).

Configuración de reacción	
Master Mix	20 µl
Muestra o control	10 µl
Volumen total	30 µl

- ▶ Asegúrese de que al menos se utilicen un control positivo y uno negativo por serie.
- ▶ Mezcle a fondo las muestras y los controles con la Master Mix pipeteando hacia arriba y hacia abajo.
- ▶ Cierre la placa de reacción de 96 pocillos con las tapas adecuadas o una lámina adhesiva óptica y los tubos de reacción con las tapas adecuadas.
- ▶ Centrifugue la placa de 96 pocillos en una centrifuga con un rotor de placa de microtitulación durante 30 segundos a aproximadamente 1000 x g (~3000 rpm).

9. Programación de los instrumentos de PCR en tiempo real

Para obtener información básica sobre la preparación y la programación de los diferentes instrumentos de PCR en tiempo real, consulte el manual de usuario del instrumento en cuestión.

Para obtener instrucciones detalladas para la programación en relación con el uso del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 en instrumentos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con nuestro Servicio técnico (ver capítulo 14. Servicio técnico).

9.1 Configuración

- ▶ Defina la siguiente configuración:

Configuración	
Volumen de reacción	30 µl
Índice de aumento	Predeterminado
Referencia pasiva	Ninguno

9.2 Detectores de fluorescencia

- ▶ Defina los detectores de fluorescencia (colorantes):

Objetivo	Nombre de detector	Reporter	Quencher
ARN específico de CHIKV	CHIKV	FAM™	(Ninguno)
Internal Control (Control interno)	IC	JOE™	(Ninguno)

9.3 Perfil de temperatura y detección de fluorescencia

- ▶ Defina el perfil de temperatura y la detección de fluorescencia:

	Fase	Ciclo Repeticio-nes	Obtención	Temperatura [°C]	Tiempo [min:s]
Transcripción inversa	Retención	1	-	55	20:00
Desnaturalización	Retención	1	-	95	02:00
Amplificación	Ciclo	45	-	95	0:15
			sí	55	0:45
			-	72	0:15

10. Análisis de datos

Para ver información básica en relación con el análisis de datos en instrumentos específicos de PCR en tiempo real, consulte el manual de usuario del instrumento en cuestión.

Para ver instrucciones sobre el análisis de los datos generados con el RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 en diferentes instrumentos específicos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con nuestro Servicio técnico (ver capítulo 14. Servicio técnico).

10.1 Validez de las series de pruebas diagnósticas

10.1.1 Serie válida de pruebas diagnósticas

Para que una serie de pruebas diagnósticas sea **válida**, deben cumplirse las siguientes condiciones de control:

Id. de control	Canal de detección	
	FAM™	JOE™
Control positivo	+	+/-*
Control negativo	-	+

* La presencia o ausencia de una señal en el canal JOE™ no es relevante para la validez de la prueba.

10.1.2 Serie no válida de pruebas diagnósticas

Una serie de pruebas diagnósticas es **no válida**(i) si la serie no se ha completado o (ii) si no se cumple cualquiera de las condiciones de control para una serie de pruebas diagnósticas **válida**.

En caso de que obtenga una serie de pruebas diagnósticas **no válida**, repita las pruebas utilizando el resto de ácidos nucleicos purificados o empiece de nuevo con las muestras originales.

10.2 Interpretación de los resultados

10.2.1 Análisis cualitativo

Canal de detección		Interpretación del resultado
FAM™	JOE™	
+	+*	Se ha detectado ARN específico de CHIKV.
-	+	No se ha detectado ARN específico de CHIKV. La muestra no contiene cantidades detectables de ARN específico de CHIKV.
-	-	Inhibición de la RT-PCR o fallo del reactivo. Repita el test con la muestra original o recoja y someta a pruebas una nueva muestra.

* La detección del Control interno en el canal de detección JOE™ no es necesaria para resultados positivos en el canal de detección FAM™. Una carga alta de ARN de CHIKV en la muestra puede provocar señales reducidas o ausentes de Control interno.

11.3 Precisión

La precisión para el RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se determinó como variabilidad de intratest (variabilidad dentro de un experimento), variabilidad de intertest (variabilidad entre diferentes experimentos) y variabilidad interlote (variabilidad entre diferentes lotes de producción). La variabilidad total se calculó combinando los tres análisis.

Los datos de variabilidad se expresan en términos de desviación estándar y coeficiente de variación, basándose en valores de ciclo de umbral de (C_t). Se analizaron al menos ocho replicados por muestra para variabilidad intratest, intertest e interlote.

Tabla 2: Datos de precisión para la detección específica del ARN de CHIKV

CHIKV	Ciclo de umbral medio (C _t)	Desviación estándar	Coefficiente de variación [%]
Variabilidad intratest	31,30	0,10	0,30
Variabilidad intertest	31,17	0,11	0,35
Variabilidad interlote	30,28	0,08	0,26
Variabilidad total	31,20	0,12	0,38

Tabla 3: Datos de precisión para la detección del Control interno

Control interno	Ciclo de umbral medio (C _t)	Desviación estándar	Coefficiente de variación [%]
Variabilidad intratest	29,13	0,50	1,60
Variabilidad intertest	29,32	0,39	1,33
Variabilidad interlote	29,60	0,18	0,60
Variabilidad total	29,31	0,34	1,16

12. Limitaciones

- Se requiere el cumplimiento estricto de las instrucciones de uso para obtener unos resultados óptimos.
- El uso de este producto se limita a personal instruido especialmente y formado en las técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- Unas buenas prácticas de laboratorio son esenciales para que esta test tenga un rendimiento adecuado. Deben extremarse las precauciones para preservar la pureza de los componentes del kit y las configuraciones de reacción. Todos los reactivos deben supervisarse atentamente para saber si tienen impurezas y contaminación. Los reactivos sospechosos deben descartarse.
- Es necesario realizar procedimientos correctos de recolección, transporte, almacenamiento y procesamiento para que esta prueba tenga un rendimiento óptimo.
- Esta el test no debe utilizarse directamente en la muestra. Deben llevarse a cabo métodos adecuados de extracción de ácido nucleico antes de utilizar esta prueba de valoración.
- La presencia de inhibidores de la RT-PCR (p.ej. heparina) puede provocar falsos negativos o resultados no válidos.
- Las posibles mutaciones dentro de las regiones diana del genoma de CHIKV cubiertas por los cebadores o las sondas utilizados en el kit pueden provocar fallos al detectar la presencia del patógeno.
- Como con cualquier prueba diagnóstica, los resultados del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 deben interpretarse teniendo en consideración todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
- A pesar del uso de una región objetivo muy conservada para la detección específica de ARN del virus del chikungunya (CHIKV), no puede descartarse la reactividad cruzada con ARN de algunos genotipos del virus O'nyong nyong (ONNV, por sus siglas en inglés) estrechamente emparentado.

11. Evaluación de rendimiento

La evaluación de rendimiento analítico del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se realizó utilizando ARN cuantificado (transcripciones *in vitro*) de la cepa 899 de CHIKV (número de muestreo de GenBank: FJ959103).

11.1 Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se define como la concentración (copias/μl del eluido) de moléculas de ARN específico de CHIKV que pueden detectarse con un índice positivo del 95 %. La sensibilidad analítica se determinó mediante el análisis de la serie de diluciones de ARN de CHIKV cuantificado.

Tabla 1: Resultados de RT-PCR utilizados para el cálculo de la sensibilidad analítica con respecto a la detección específica del ARN de CHIKV

Conc. [copias/μl]	Número de replicados	Número de positivos	Índice de éxito [%]
31,622	18	18	100
10,000	18	18	100
3,162	18	18	100
1,000	18	18	100
0,500	18	18	100
0,316	18	18	100
0,100	18	7	39
0,050	18	6	33
0,032	18	4	22
0,010	12	0	0

La sensibilidad analítica del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se determinó mediante análisis Probit:

- Para la detección de ARN específico del virus del chikunguña, la sensibilidad analítica es de 0,32 copias/μl del eluido [95 % de intervalo de confianza (CI): intervalo de 0,21 a 0,67 copias/μl]

11.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se garantiza mediante la selección exhaustiva de los oligonucleótidos (cebadores y sondas). Los oligonucleótidos se comprobaron mediante un análisis de comparación con secuencias disponibles públicamente para asegurar que se detectarán todos los genotipos relevantes de CHIKV.

La especificidad analítica del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se evaluó probando un panel de ARN genómico extraído de virus diferentes a CHIKV, alfavirus y otros patógenos.

El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 no mostró reacciones cruzadas con ninguno de los siguientes patógenos:

- Virus del dengue serotipo 1
- Virus del dengue serotipo 2
- Virus del dengue serotipo 3
- Virus del dengue serotipo 4
- Virus de la encefalitis japonesa
- Virus de la encefalitis de San Luis
- Virus de la fiebre amarilla
- Virus de la encefalitis del valle del Murray
- Virus Usutu
- Virus de Marburgo (MARV)
- Virus del Ébola cepa Sudán (SEBOV)
- Virus del Ébola cepa Zaire (ZEBOV)

13. Control de calidad

De acuerdo con el sistema de control de calidad con certificación ISO 13485 de Altona Diagnostics GmbH, cada lote del RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 se somete a pruebas con especificaciones predeterminadas para asegurar la calidad consistente del producto.

14. Servicio técnico

Si necesita asesoramiento técnico, póngase en contacto con nuestro Servicio técnico:

E-mail: support@altona-diagnostics.com
Teléfono: +49-(0)40-5480676-0

15. Bibliografía

Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise y David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology, 10.ª edición, ASM Press, 2011.

Cohen, Jonathan, Powderly, William G. y Steven M. Opal. Infectious Diseases, tercera edición, Mosby, 2010.

16. Marcas comerciales e información legal

RealStar® (Altona Diagnostics); ABI Prism® (Applied Biosystems); ATCC® (American Type Culture Collection); CFX96™ (Bio-Rad); Cy® (GE Healthcare); FAM™, JOE™, ROX™ (Life Technologies); LightCycler® (Roche); Maxwell® (Promega); Mx 3005P™ (Stratagene); NucleiSENS® (bioMérieux); Rotor-Gene®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN); VERSANT® (Siemens Healthcare).

No debe considerarse que los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso aunque no se marquen específicamente como tales, carecen de protección legal.

El RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 es un kit de diagnóstico con marcado CE conforme a la directiva europea de diagnóstico *in vitro* 98/79/EC.

Producto sin licencia con Health Canada y sin autorización ni aprobación de la FDA.

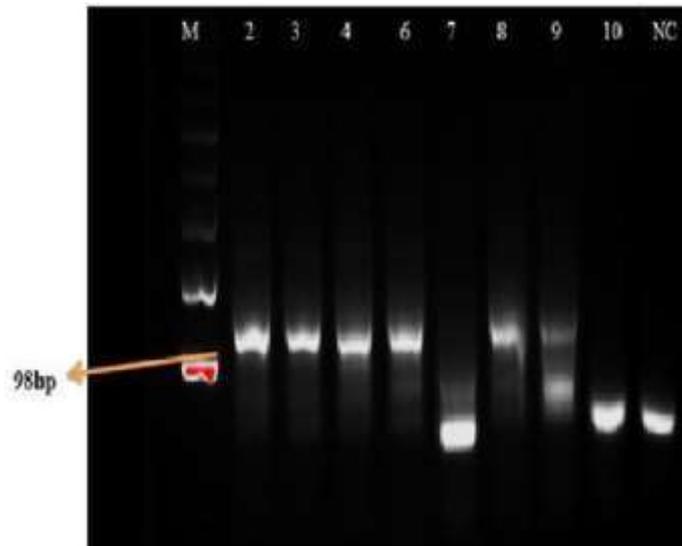
No disponible en todos los países.

© 2017 Altona Diagnostics GmbH; reservados todos los derechos.

17. Explicación de los símbolos

	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Color del tapón
	Número de producto
	Contenido
	Número
	Componente
	Número mundial de artículo comercial
	Consultar instrucciones de uso
	Contiene suficiente para «n» pruebas/reacciones (rxns)
	Límite de temperatura
	Fecha de vencimiento
	Fabricante
	Precaución
	Nota
	Versión

Anexo 15. Visualización del virus Chikungunya por RT-PCR



Fuente: Molecular detection of arboviruses in Aedes mosquitoes collected from Kyela district, Tanzania. (2016). Obtenido ResearchGate https://www.researchgate.net/publication/304846714_Molecular_detection_of_arboviruses_in_Aedes_mosquitoes_collected_from_Kyela_district_Tanzania

Anexo 16. Inserto de ELISA de captura para detección de *Chikungunya*

 *Instrucciones de Uso*

Chikungunya IgG capture ELISA

Enzimoimmunoensayo para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG contra -Chikungunya virus en suero humano o plasma humano.

REF **RE58831**

 **96**

  **2-8°C**

IBL **IVD** 

IBL INTERNATIONAL GMBH
Pflughafenstrasse 32a Phone: +49 (0)40-53 28 91-0 IBL@IBL-International.com
D-22335 Hamburg, Germany Fax: +49 (0)40-53 28 91-11 www.IBL-International.com

1. INTRODUCCIÓN

El virus Chikungunya es un virus de artrópodos del género Alphavirus (familia Togaviridae). El género Alphavirus contiene al menos 24 especies distintas. Estos son viriones de envoltura lipídica con un diámetro de 50 a 60 nm.

Las infecciones de Alphavirus se inician por la picadura de un mosquito infectado, lo que resulta en la deposición de virus en los tejidos subcutáneos y cutáneos posiblemente. Después de un periodo de incubación de 1 a 12 días, se desarrolla la fiebre de Chikungunya.

Fiebre Chikungunya (Chikungunya significa "lo que se dobla hacia arriba", en referencia a las manifestaciones incapacitantes de la enfermedad) es una infección viral aguda que se caracteriza por una rápida transición de un buen estado de salud a la enfermedad que incluye artralgia grave y fiebre.

La temperatura sube bruscamente hasta un máximo de 40°C y, a menudo se acompaña de escalofríos. Después de unos días, la fiebre puede reducir y recrudecer, dando lugar a una "ensillada" curva de la fiebre. La artralgia es poliarticular, lo que favorece a las pequeñas articulaciones y los sitios de lesiones previas, y es más intensa al levantarse. Los pacientes suelen evitar el movimiento tanto como sea posible. Las articulaciones pueden hincharse sin acumulaciones de líquido significativas. Estos síntomas pueden durar de 1 semana a varios meses y se acompañan por mialgia. La erupción aparece característicamente en el primer día de la enfermedad, pero el inicio puede retrasarse. Por lo general se presenta como un rubor en la cara y el cuello, que evoluciona a una forma maculopapular o macular que puede ser pruriginosa. Estas últimas lesiones aparecen en el tronco, extremidades, cara, palmas y plantas, en ese orden de frecuencia. También se han observado lesiones petequiales de la piel. Dolor de cabeza, fotofobia, dolor retro-orbital, dolor de garganta con signos objetivos de faringitis, náuseas y vómitos también se producen en este contexto. De vez en cuando, sin embargo, artralgias persistentes y poliartritis (meses o incluso años de duración) se producen, a veces con la destrucción articular. Aún más raro, las secuelas incluyen encefalitis y meningoencefalitis con altas tasas de letalidad.

El virus tiene una gran importancia en África y Asia. Desde el 20% hasta más del 90% de la población tropical y subtropical muestran evidencias serológicas de infección. Debido a que los mosquitos Aedes son cada vez más frecuentes en el norte de África y América del Sur, donde la población sería susceptible de manera uniforme a la infección, la posibilidad de epidemias es evidente. Infecciones por virus de Chikungunya se importan a Europa central, principalmente por los viajeros a países tropicales y subtropicales.

Especies	Enfermedad	Síntomas	Mecanismo de infección
Virus Chikungunya (Alphavirus)	Fiebre Chikungunya	Fiebre Exantema Dolor en las articulaciones Artralgia y poliartritis persistente, a veces con destrucción articular. Aún más raro encefalitis y meningoencefalitis	La transmisión por los mosquitos chupadores de sangre Aedes albopictus (África) Aedes aegypti (África, Asia)

La respuesta de la presencia de la infección resp. puede ser identificada por

- Serología: Detección de anticuerpos por IF, ELISA

2. USO PREVISTO

El ensayo de inmunoenzima se utiliza para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG específicos contra Chikungunya virus en suero o plasma (citrate) humano.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

La determinación inmunoenzimática cualitativa de anticuerpos específicos contra Chikungunya virus se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

Las tiras de microtitulación se recubrieron previamente con anti IgG humana para unirse a los anticuerpos correspondientes de la muestra. Después de lavar los pozos para retirar todo el material de la muestra no unido y material de control se agrega solución de antígeno Chikungunya. Después de una etapa de lavado adicional se pipetea anticuerpo biotinilado de Chikungunya en los pozos. Después de lavar se añade estreptavidina conjugada que se une al inmunocomplejo Chikungunya-específico capturado. Estos complejos inmunológicos desarrollan una coloración azul después de incubarlos con sustrato de tetrametilbenzidina (TMB). Finalmente se añade ácido sulfúrico para detener la reacción, causando un cambio de coloración de azul a amarillo. La densidad óptica se mide con un lector de ELISA a 450nm.

4. MATERIALES

4.1. Reactivos suministrados

- **Microtiras (IgG) de Chikungunya Virus:** 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertos con anticuerpos anti IgG humana, en bolsa de aluminio.
- **Diluyente para IgG de la muestra***:** 1 botella de 100ml de solución de tampón para diluir la muestra; pH 7.2 ± 0.2 ; color amarillo; listo para ser utilizado; tapa blanca.
- **Solución de parada:** 1 botella de 15ml de ácido sulfúrico, 0,2mol/l, listo para ser utilizado; tapa roja.
- **Solución de lavado (20x conc.):*** 1 botella de 50ml de una solución de tampón concentrado 20x para lavar los pozos; pH 7.2 ± 0.2 ; tapa blanca.
- **Antígeno Chikungunya, liofilizado:** 6 botellas que contienen solución de antígeno Chikungunya liofilizado; tapa roja.
- **Solución anticuerpo Chikungunya****:** 1 botella contiene 6ml de anticuerpo Chikungunya liofilizado, listo para usar; de color azul, tapa blanca.
- **Estreptavidina Conjugada **:** 1 botella contiene 6ml de estreptavidina conjugada con peroxidasa, listo para usar; de color azul; tapa negro.
- **Solución de sustrato de TMB:** 1 botella de 15ml 3,3',5,5'-tetrametilbenzindina (TMB); listo para ser utilizado; tapa amarilla.
- **Control positivo de IgG (Chikungunya Virus)***:** 1 botella de 1,5 ml; color amarillo; tapa roja; listo para ser utilizado.
- **Control cut-off de IgG (Chikungunya Virus)***:** 1 botella de 2 ml; color amarillo; tapa verde; listo para ser utilizado
- **Control negativo de IgG (Chikungunya Virus)***:** 1 botella de 1,5 ml; color amarillo; tapa azul; listo para ser utilizado.

* contiene 0.1% de Bronidox L después de diluir

** contiene 0.2% Bronidox L

*** contiene 0.1% Catón

**** contiene 0.02 % Catón e 0,02% Bronidox L

4.2. Accesorios suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 soporte
- 1 hoja de instrucciones

4.3. Materiales e instrumentos necesarios

- Fotómetro con filtros de 450/620 nm
- Incubadora/cámara húmeda con termostato
- Dispositivo de lavado manual o automático
- Micropipetas con puntas desechables 10 - 1000 μ l
- Mezcladora Vortex
- Tubos de plástico desechables
- Gradilla para los tubos
- Agua destilada
- Cronómetro

5. ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

El test tiene que estar almacenado de 2 - 8°C. No usar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de las botellas y en el exterior.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos, las muestras y los controles tienen que estar a la temperatura ambiente (20 - 25°C) antes de ser utilizados!

6.1. Tiras reactivas

Las tiras separables están recubiertas con IgG anti-humano. Los pocillos listos para ser utilizados tienen que estar almacenados de 2 - 8°C. *Mantener los pocillos no utilizados en la bolsa de aluminio junto con el desecante y conservar de 2 - 8°C. El producto se conserva hasta la fecha de caducidad indicada.*

6.2. Antígeno Chikungunya

Los frascos contienen solución de antígeno Chikungunya liofilizado. El contenido de cada vial se tiene que preparar en 1 ml de solución de lavado diluida agitandola lentamente (no vórtex) e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. La solución reconstituida es estable durante 1 día de 2 - 8 ° C.

6.3. Solución de anticuerpo Chikungunya

La botella contiene 6 ml de anticuerpo Chikungunya biotinilado, estabilizadores, conservantes y un colorante azul inerte. Esta solución está lista para usar tiene que ser almacenada de 2 - 8 ° C. Después de abrir por primera vez es estable hasta la fecha de caducidad cuando se almacena a 2 - 8 ° C.

6.4. Controles

Las botellas de los controles contienen de solución de control listas para ser utilizadas. Las soluciones tienen que estar almacenadas de 2 - 8°C y contienen 0.1% de Catón. *Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2 - 8°C.*

6.5. Tampón de dilución para la muestra

La botella contiene 100ml de tampón de fosfato, estabilizadores, conservantes y un colorante amarillo inerte. La solución lista para ser utilizada ha de almacenarse entre 2 - 8°C. La solución se usa para diluir las muestras. *Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2 - 8°C.*

6.6. Solución de lavado (20x conc.)

La botella contiene 50ml de tampón concentrado, detergentes y conservantes. El contenido se diluye con un litro de agua destilada (1+19) per ejemplo 10mL + 190mL. La solución diluida es estable 5 días a temperatura ambiente. *La cristalización en el concentrado desaparece al calentarla a 37°C y mezclarla bien antes de usarla. Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2 - 8°C.*

6.7. Estreptavidina Conjugada

1 frasco contiene 6 ml de estreptavidina conjugada con peroxidasa, detergentes y conservantes. La solución lista para ser utilizada se tiene que almacenar entre 2 - 8 ° C. *Después de abierto el conjugado es estable hasta la fecha de caducidad si está almacenado de 2 - 8 ° C.*

6.8. Solución de TMB

La botella contiene 15ml de una mezcla de tetrametilbenzidina con peróxido de hidrógeno. La solución lista para ser utilizada se tiene que almacenar entre 2 - 8°C protegida de la luz. *La solución es levemente azulada. En caso de contaminación cambia a una coloración azul más intensa no pudiendo ser utilizada en el ensayo.*

6.9. Solución de parada

La botella contiene 15ml de 0.2 M de ácido sulfúrico (R36/38, S26). La solución lista para ser utilizada se tiene que almacenar entre 2 - 8°C. *Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2 - 8°C.*

7. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Usar muestras de suero o plasma (citrato) humano. Si el ensayo se realiza dentro de 5 días después de la toma de sangre, las muestras pueden ser almacenadas de 2 - 8°C, en caso contrario hay que congelarlas (-20°C). Agitar bien las muestras descongeladas antes de diluirlas. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.

No se recomienda la inactivación por calor de las muestras.

7.1. Dilución de las muestras

Antes del ensayo, las muestras tienen que estar diluidas en relación 1+100 con el tampón de dilución para la muestra de IgG, p.e. 10µl de la muestra con 1ml de tampón, mezclar bien con la mezcladora Vortex.

8. PROCEDIMIENTO

8.1. Preparación del ensayo

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones del ensayo **antes** de realizarlo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. El siguiente procedimiento es válido para el método manual. Para excluir efectos de lavado en caso de utilizar equipos automatizados para ELISA aumentar el número de lavado de 3 a 5 veces y el volumen de solución de lavado de 300 µl a 350 µl. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los controles en la hoja de resultados suministrada. Usar la cantidad necesaria de tiras o pocillos en el soporte.

En este caso por lo menos

1 pocillo	(p. ej. A1)	para el blanco,
1 pocillo	(p. ej. B1)	para el control negativo,
2 pocillos	(p. ej. C1+D1)	para el control cut-off y
1 pocillo	(p. ej. E1)	para el control positivo

Para mayor seguridad es necesario hacer doble ensayo de controles y muestras del paciente.

Realizar el ensayo en el orden indicado y sin retraso.

Para cada paso de pipeteado en los controles y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso.

Graduar la incubadora a $37 \pm 1^\circ\text{C}$

1. Pipetear 50 µl de controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. Incubar **1 h \pm 5 min a 37°C.**
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla **tres veces** con 300µl de la solución de lavado. Evitar el rebosamiento de los pocillos. El tiempo entre cada lavado y cada aspiración tiene que ser por lo menos de 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente.

***Nota:** El lavado es muy importante! Un mal lavado provoca una mala precisión y resultados erróneamente aumentados!*

5. Dispensar 50 µl de antígeno Chikungunya reconstituido en todos los pozos, excepto para el blanco (por ejemplo A1). Cubrir con los autoadhesivos suministrados.
6. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20 - 25°C).** Evitar la luz solar directa.
7. Repetir el lavado como en el paso número 4.
8. Dispensar 50 µl de solución de anticuerpo Chikungunya en todos los pozos, excepto para el blanco (por ejemplo A1). Cubrir con los autoadhesivos suministrados.
9. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20 - 25°C).**
10. Repetir el lavado como en el paso número 4.
11. Dispensar 50 µl de estreptavidina conjugada con peroxidasa en todos los pozos, excepto para el blanco (por ejemplo A1). Cubrir con los autoadhesivos suministrados.
12. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20 - 25°C).** Evitar la luz solar directa.
13. Repetir el lavado como en el paso número 4.
14. Pipetar 100µl de sustrato de TMB en todos los pocillos.
15. **Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente (20 - 25°C).**
16. Pipetear en todos los pocillos 100µl de la solución de parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con el sustrato de TMB. *Toda coloración azul formada durante la incubación se convierte en amarilla.*

***Nota:** Muestras que son altamente positivas pueden causar precipitados negros del cromógeno! Estos precipitados influyen en los valores de las mediciones. Se recomienda diluir las muestras del paciente con solución salina 1+1. Después, preparar la muestra diluida con el tampón de dilución para la prueba de IgG 1+100. En este caso, el resultado se multiplica por 2.*

17. Medir la extinción de la solución en cada pocillo con 450/620nm en un periodo de 30 min después de añadir la solución de parada.

8.2. Medición

Efectuar con ayuda del blanco en el pocillo **A1** la **calibración al cero** del fotómetro (lector de ELISA).

Para obtener resultados correctos, si la calibración no es posible por causas técnicas, hay que sustraer el valor de la absorbancia de la posición A1 del resto de los valores de absorbancia!

Medir la **absorbancia** de todos los pocillos con **450nm** y anotar los resultados de los controles y de las muestras en la hoja de resultados.

*Es aconsejable la medición **bicromática** a una longitud de onda de referencia de 620nm.*

Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular el **promedio de los valores de absorbancia** de los pocillos correspondientes.

9. CALCULO DE LOS RESULTADOS

9.1. Criterios de validez del ensayo

El ensayo es válido si se cumplen los siguientes criterios:

- **Blanco** en A1 extinción < **0.100**
- **Control negativo** en B1 extinción < **cut-off**
- **Control cut-off** en C1 y D1 extinción **0,150 – 1,30**
- **Control positivo** en E1 extinción > **cut-off**

Si estos criterios no se cumplen, la prueba no es válida y deberá repetirse.

9.2. Calculo del valor de la medición

El *cut-off* se obtiene de los valores de la absorbancia de los dos controles Cut-off.

Ejemplo: $0,39 \text{ OD Cut-off Control} + 0,37 \text{ OD Cut-off Control} = 0,76 / 2 = \underline{0,38}$
Cut-off = 0,38

9.3. Interpretación de los resultados

Las muestras se consideran positivas cuando el valor de la absorbancia es como mínimo mayor al 10% del valor del *cut-off*.

Las muestras con valores de absorbancia $\pm 10\%$ del *cut-off* no pueden ser consideradas claramente positivas o negativas → **Zona intermedia**

Se recomienda entonces repetir el ensayo con nuevas muestras del paciente de 2 a 4 semanas más tarde. Si de nuevo se encuentran resultados en la zona intermedia, la muestra tiene que estar valorada como **negativa**.

Las muestras se consideran **negativas** si el valor de la absorbancia esta por lo menos un 10% por debajo del *cut-off*.

9.3.1. Resultados en unidades [U]

$\frac{\text{Promedio de la extinción de la muestra} \times 10}{\text{Cut-Off}} = [\text{NovaTec-unidades} = \text{U}]$

Ejemplo: $\frac{1,216 \times 10}{0,38} = 32 \text{ U (Units)}$

Cut-Off :	10	U
Zona intermedia:	9-11	U
Negativo:	<9	U
Positivo:	>11	U

10. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

10.1. Precisión

Intra ensayo	n	Promedio (OD)	CV (%)
Suero pos.	3 (69)	0.39	10.9
Suero pos.	3 (72)	1.41	3.7
Inter ensayo	n	Promedio (OD)	CV (%)
Suero pos.	23	0.39	9.4
Suero pos.	24	1.44	2.7

10.2. Especificidad del ensayo

La especificidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado negativo en ausencia de la sustancia a analizar específicamente > 90%

10.3. Sensibilidad del ensayo

La sensibilidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado positivo en presencia del analítico específico > 90%

10.4. Interferencias

Las muestras lipémicas, ictericas e hemolíticas no mostraron interferencias con este equipo ELISA hasta una concentración de 5 mg/ml para triglicéridos, de 0,5 mg/ml para bilirubina y de 10 mg/ml para hemoglobina.

10.5. Reacción cruzada

Las muestras con anticuerpos IgG contra el virus del dengue, encefalitis transmitida por garrapatas, CMV, EBV y Helicobacter pylori no mostraron reacción cruzada. La reacción cruzada con anticuerpos contra el virus de O'Nyong Nyong no está excluida.

Nota: Los resultados referidos están basados en grupos de muestras investigadas. No se trata de especificaciones garantizadas

11. LIMITACIONES DEL ENSAYO

Una contaminación de las muestras con bacterias, o una congelación y descongelación repetida pueden producir cambios en los valores de la absorbancia.

El diagnóstico de una infección no solamente se debe basar en el resultado del ensayo. Es necesario considerar la anamnesis y la sintomatología del paciente junto al resultado serológico. Estos resultados sólo tienen valor restringido en personas inmunodeprimidas o en neonatos.

12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- En cumplimiento con el artículo 1 párrafo 2b de la directiva europea 98/79/EC, la utilización de sistemas médicos para diagnóstico in vitro tiene la intención por parte del fabricante de asegurar la adecuación, realizaciones y seguridad del producto. Por lo tanto, el procedimiento, la información, las precauciones y los avisos de las instrucciones de uso han de ser seguidas estrictamente. La utilización de equipos con analizadores y equipamiento similar tiene que ser validada. No se autorizan cambios en el diseño, composición y procedimiento, así como cualquier utilización en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario debe hacerse responsable de estos cambios. El fabricante no responderá ante falsos resultados e incidentes debidos a estas razones. El fabricante no responderá ante cualquier resultado por análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Solo para diagnóstico in vitro.
- Todos los componentes de origen humano han sido examinados y resultaron no reactivos a anticuerpos contra el VIH, VHC y HbsAG. No obstante, todos los materiales se deben considerar y tratar como potencialmente infecciosos.

- Los antígenos Chikungunya se inactivan. Todos los materiales se deben considerar y tratar como potencialmente infecciosos. Utilice guantes mientras se realiza la prueba. Se recomienda utilizar el antígeno debajo de la cabina BSL2 (banco limpio)
- No intercambiar reactivos y placas de microtitulación de cargas diferentes.
- No usar reactivos de otro fabricante para este ensayo.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Sólo usar recambios de pipetas, dispensadores y materiales de laboratorio limpios.
- No intercambiar las tapas de los diferentes reactivos.
- Para evitar la evaporación y una contaminación microbiana, cierre inmediatamente las botellas después de usarlas.
- Después de abrirlas y posterior almacenaje, asegurarse de que no existe contaminación microbiana antes de seguir usándolas.
- Pipetear cuidadosamente las muestras y el conjugado en los pocillos para evitar contaminaciones cruzadas y resultados erróneamente aumentados.
- El ELISA está pensado exclusivamente para su uso por personal especializado que domine perfectamente las técnicas de trabajo.

ADVERTENCIA:	Bronidox L, en la concentración utilizada, casi no muestra riesgos tóxicos en la piel y en las mucosas.
ADVERTENCIA:	El ácido sulfúrico irrita los ojos y la piel! En caso de contacto con los ojos lavar abundantemente con agua y consultar a un médico.

12.1. Indicaciones para la eliminación de residuos

Por regla general, los productos químicos y las preparaciones son residuos peligrosos. Su eliminación esta sometida a las leyes y los decretos nacionales sobre la eliminación de residuos. Las autoridades informan sobre la eliminación de residuos peligroso.

13. INFORMACIONES PARA PEDIDOS

N° del producto: RE58831 Chikungunya IgG capture ELISA (96 determinaciones)

BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA

Gerald L. Mandell, John E. Bennett, Raphael Dolin, Principles and practice of Infectious diseases, 2005, Chapter 147, 1913–1919

Patrick Hochedez, Staphane Jaureguiberry, Monique Debruyne, Philippe Bossi, Pierre Hausfater, Gilles Brucker, Francois Bricaire, Eric Caumes, Chikungunya infection in travellers, Emerging Infectious Diseases Vol. 12, No. 10, October 2006, 1565-1566

F.H. Kayser, K.A. Bienz, J. Eckert, R.M. Zinkernagel, Medical Microbiology, Stuttgart 2005, 440-441

SCHEME OF THE ASSAY

Chikungunya IgG capture ELISA

Assay preparation

Prepare reagents and samples as described.
Establish the distribution and identification plan for all specimens and controls on a form.
Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Assay procedure

	Substrate blank (e.g. A1)	Negative control	Positive control	Cut-off control	Sample (diluted 1+100)
Negative control	-	50µl	-	-	-
Positive control	-	-	50µl	-	-
Cut-off control	-	-	-	50µl	-
Sample (diluted 1+100)	-	-	-	-	50µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 1 h at 37°C Wash each well three times with 300µl of washing solution					
Reconstituted Antigen	-	50µl	50µl	50µl	50µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 30 min at room temperature Wash each well three times with 300µl of washing solution					
Antibody Solution	-	50µl	50µl	50µl	50µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 30 min at room temperature Wash each well three times with 300µl of washing solution					
Streptavidin conjugate	-	50µl	50µl	50µl	50µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 30 min at room temperature Wash each well three times with 300µl of washing solution					
TMB	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for exact 15 min at room temperature in the dark					
Stop solution	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Photometric measurement at 450 nm (reference wavelength: 620 nm)					

Symbols / Symbole / Symboles / Símbolos / Símbolos / Σύμβολα

	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.-Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός-Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
	Concentrate / Konzentrat / Concentré / Concentrar / Concentrado / Concentrato / Συμπύκνωμα
	Lyophilized / Lyophilisat / Lyophilisé / Liofilizado / Liofilizado / Liofilizzato / Λυοφιλοποιημένο
	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro Διάγνωση.
	Evaluation kit. / Nur für Leistungsbewertungszwecke. / Kit pour évaluation. / Juego de Reactivos para Evaluació. / Kit de avaliação. / Kit di valutazione. / Κιτ Αξιολόγησης.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / Διαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Keep away from heat or direct sun light. / Vor Hitze und direkter Sonneneinstrahlung schützen. / Garder à l'abri de la chaleur et de toute exposition lumineuse. / Manténgase alejado del calor o la luz solar directa. / Manter longe do calor ou luz solar directa. / Non esporre ai raggi solari. / Na φυλάσσεται μακριά από θερμότητα και άμεση επαφή με το φως του ηλίου.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazena a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbicante: / Παραγωγός:
	Caution! / Vorsicht! / Attention! / Precaución! / Cuidado! / Attenzione! / Προσοχή!
<p>Symbols of the kit components see MATERIALS SUPPLIED.</p> <p>Die Symbole der Komponenten sind im Kapitel KOMPONENTEN DES KITS beschrieben.</p> <p>Voir MATERIEL FOURNI pour les symboles des composants du kit.</p> <p>Símbolos de los componentes del juego de reactivos, vea MATERIALES SUMINISTRADOS.</p> <p>Para símbolos dos componentes do kit ver MATERIAIS FORNECIDOS.</p> <p>Per i simboli dei componenti del kit si veda COMPONENTI DEL KIT.</p> <p>Για τα σύμβολα των συστατικών του κιτ συμβουλευτείτε το ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ.</p>	

COMPLAINTS: Complaints may be submitted initially written or vocal. Subsequently they need to be filed including the test performance and results in writing in case of analytical reasons.

WARRANTY: The product is warranted to be free from material defects within the specific shelf life and to comply with product specifications delivered with the product. The product must be used according to the intended use, all instructions given in the instructions for use and within the product specific shelf life. Any modification of the test procedure or exchange or mixing of components of different lots could negatively affect the results. These cases invalidate any claim for replacement.

LIMITATION OF LIABILITY: IN ALL CIRCUMSTANCES THE EXTENT OF MANUFACTURER'S LIABILITY IS LIMITED TO THE PURCHASE PRICE OF THE KIT(S) IN QUESTION. IN NO EVENT SHALL MANUFACTURER BE LIABLE FOR ANY INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING DAMAGES FOR LOST PROFITS, LOST SALES, INJURY TO PERSON OR PROPERTY OR ANY OTHER INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL LOSS.

	IBL International GmbH	Tel.: + 49 (0) 40 532891 -0	Fax: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Hamburg, Germany	E-MAIL: IBL@IBL-International.com	
		WEB: http://www.IBL-International.com	

Anexo 17. Referencias bibliográficas utilizadas para la muestra

Autor	Año	Población	Título	País	Revista	Ref.
Foeller M et al	2020	416 parejas de madre e hijo	Chikungunya infection in pregnancy – reassuring maternal and perinatal outcomes: a retrospective observational study		BJOG	3
Mendoza I, Ayala A.	2017	Revisión bibliográfica	Utilidad de los métodos inmunológicos y moleculares para el diagnóstico del virus del <i>Chikungunya</i> .		Cienc. innov. Salud	7
Stewart A et al.	2018	324 pacientes con sospecha de infección	La carga del dengue y la <i>Chikungunya</i> en la costa sur de Ecuador: epidemiología, presentación clínica y filogenia de los primeros dos años de un estudio prospectivo.	Ecuador	Am J Trop Med Hyg	9
Acevedo N et al	2017	Muestras de LCR de 16 pacientes	<i>Zika</i> virus, <i>Chikungunya</i> virus, and dengue virus in cerebrospinal fluid from adults with neurological manifestations, Guayaquil, Ecuador	Ecuador	Frontiers in Microbiology	10
Pérez G et al	2014	Revisión bibliográfica	Fiebre de <i>Chikungunya</i> : enfermedad infrecuente como emergencia médica en Cuba.	Cuba	MEDISAN	11
OPS	2011		Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus <i>Chikungunya</i> en las Américas	Washington		13
Gómez M, Isaza D.	2016	Revisión bibliográfica	El virus <i>Chikungunya</i> en Colombia: Aspectos clínicos y epidemiológicos y revisión de la literatura	Colombia	Iatreia	20
Anwar S, et al.	2017	187 casos	Brote de <i>Chikungunya</i> en Bangladesh (2017): hallazgos clínicos y hematológicos.	Bangladesh	PLoS Negl Trop Dis	30
Solís F, Soza O.	2016	112 pacientes	Comportamiento clínico y epidemiológico del <i>Chikungunya</i> en pacientes del departamento de León ingresados al HEODRA, en el período comprendido de mayo 2015 a mayo 2016	Nicaragua	UNAN	31
Jiménez C et al.	2020	6752 pacientes	Manifestaciones agudas en infección por virus del <i>Chikungunya</i> en una ciudad endémica de Colombia	Colombia	Revista Cubana de Salud Pública	32

Rueda J et al.	2019	548 pacientes	Características demográficas y clínicas de pacientes de pacientes con <i>Chikungunya</i> de seis ciudades colombianas, 2014-2015.	Colombia	Emerg Microbes Infect	33
Jaller J et al.	2016	109 pacientes	Caracterización clínica de sujetos infectados con virus Chikungunya, en una población del Caribe colombiano.	Colombia	Revista Colombiana de Reumatología	35
Lozano R et al.	2017	112 casos	Caracterización clínica de la enfermedad aguda y convaleciente de casos confirmados de <i>Chikungunya</i> en Chiapas, S. México: un estudio transversal.	México	Plos One	36
Sosa M et al	2018	116 pacientes	Caracterización de las manifestaciones clínicas crónicas en pacientes con fiebre <i>Chikungunya</i> .	México	Rev Med Inst Mex Seguro So.	39
Muñoz C et al	2014	18 casos sospechosos recién nacidos y lactantes	Manifestaciones mucocutáneas atípicas por fiebre por el virus del <i>Chikungunya</i> en neonatos y lactantes de Cúcuta, Los Patios y Villa del Rosario, Norte de Santander, Colombia, 2014.	Colombia	Biomédica	40
Turtos L et al	2019	Lactante de 6 meses de edad	<i>Chikungunya</i> : Una manifestación atípica en la piel. Reporte de un caso.	Cuba	Holguín	41
Martínez M et al.	2020		Diagnóstico microbiológico de las principales arbovirosis importadas y autóctonas.	España	Seimc	48
Perret C et al	2018	21 pacientes	Chikungunya, enfermedad emergente en América Latina. Descripción de los primeros casos en Chile.	Chile	Rev. chil. Infectol	51
Cáceres C, Ávila K	2016	90 pacientes.	Caracterización de las complicaciones pos infección por virus <i>Chikungunya</i> en pacientes del servicio de urgencias del Hospital Salazar de Villeta Cundinamarca entre enero y junio del 2015	Colombia	Universidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales	60
Langsjoen R et al	2016	194 muestras	Características virológicas y clínicas moleculares de un brote de fiebre <i>Chikungunya</i> en La Romana, República Dominicana, 2014.	República Dominicana	PLoS Negl Trop Dis	61
Huits R, et al	2018	498 sueros	Infección por el virus de <i>Chikungunya</i> en Aruba: diagnóstico, características clínicas y predictores de poliartralgia crónica post- <i>Chikungunya</i> .	Aruba	Plos One Plos	62

Monteiro J, et al	2020	284 muestras	Investigaciones epidemiológicas y clínicas durante un brote de <i>Chikungunya</i> en el estado de Rio Grande do Norte, Brasil.	Brasil	Plos One	63
Bloch D, et al.	2016	21 investigaciones	Uso de investigaciones de grupos de hogares para identificar factores asociados con lga infección por el virus <i>Chikungunya</i> y frecuencia de notificación de casos en Puerto Rico	Puerto Rico	PLoS Neglected Tropical Diseases	64
Macpherson C et al	2016		Perspectivas clínicas y serológicas del brote de <i>Chikungunya</i> de linaje asiático en Granada, 2014: un estudio observacional.	Granada	Am J Trop Med Hyg	65
Genderen F et al	2016	180 pacientes con sospecha clínica	Primer brote de <i>Chikungunya</i> en Surinam; Características clínicas y epidemiológicas.	Surinam	Plos One Plos	66
Harter S et al	2014		Virus <i>Chikungunya</i>		Revista Médica de Rica y Centro América	67
Ferreira F et al	2021	227 estudios	Transmisión vertical del virus <i>Chikungunya</i> : una revisión sistemática.	Isla Reunión	Plos One	68
Ortiz J et al	2019	45 pacientes con complicaciones obstétricas y 90 sin complicaciones	Complicaciones obstétricas del dengue y la <i>Chikungunya</i> en la paciente embarazada: estudio y casos y controles	México	Revista Médica del Instituto Mexicano de Seguro Social	69
Corrales S, et al	2016	dos casos clínicos de neonatos	Infección por <i>Chikungunya</i> materno-fetal asociada con miocarditis neonatal		Javeriana	70
Flórez L, Cardona J	2018	19 estudios	Metaanálisis sobre la utilidad de ELISA, PCR e inmunocromatográfica en el diagnóstico de <i>Chikungunya</i>		Rev Panam Salud Pública	71