

Una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra *Leptospira interrogans* en muestras de suero, suero o plasma de humanos.
Solamente para uso profesional de diagnóstico in vitro.

USO PREVISTO

Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete (Sangre Total/Suero/Plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM de *Leptospira interrogans* en sangre entera, suero o plasma humano.

SUMARIO

La leptospirosis ocurre en todo el mundo y es una problema de salud común que puede ser leve o grave para los seres humanos y los animales, sobre todo en el área con un clima húmeda y calientes. Los reservorios naturales de leptospirosis son roedores, y también una gran variedad de mamíferos domesticados. La infección humana es causada por *Leptospira interrogans*, el miembro patógeno del género de *Leptospira*^{1,2}. La infección se transmite a través de la orina del animal huésped.

Después de la infección, las leptospirosis están presentes en la sangre hasta que se borran después de 4 a 7 días después de la producción de anticuerpos anti-*Leptospira interrogans*, inicialmente de la clase IgM. Cultura de la sangre, orina y líquido cefalorraquídeo es un medio eficaz para la confirmación del diagnóstico durante 1 al 2 semanas después de la exposición. La detección serológica de anticuerpos anti-*Leptospira interrogans* es también un método de diagnóstico común. Las pruebas están disponibles en esta categoría: 1) La prueba de aglutinación microscópica (MAT); 2) ELISA; 3) pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFATS)³. Sin embargo, todos los métodos antes mencionados requieren una facilidad sofisticada y técnicos capacitados.

PRINCIPIO

Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete (Sangre Total/Suero/Plasma) es cualitativa, inmunoensayo basado en la membrana para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra *Leptospira* en sangre total, suero o plasma. La membrana está prerrevestida con IgG antihumana de ratón recombinante y IgM antihumana de ratón en la región de línea de prueba del casete. Durante la prueba, la muestra de sangre total, suero o plasma reacciona con oro coloidal conjugado con antígeno de *Leptospira interrogans* recombinante. La mezcla migra hacia arriba sobre la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con IgG antihumana de ratón y / o IgM antihumana de ratón en la membrana y generar una línea coloreada. La presencia de esta línea de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para servir como un control de procedimiento, siempre aparecerá una línea coloreada en la región de la línea de control que indica que se ha agregado el volumen apropiado de la muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

REACTIVOS

El casete de prueba contiene antígeno *Leptospira interrogans* recombinante conjugado de oro coloidal, IgG de ratón anti-humana e IgM de ratón anti-humano recubierto sobre la membrana.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso profesional de diagnóstico in vitro, nunca se debe utilizar después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba, ni fume en el área donde se manejan las muestras o los kits.
- Utiliza todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observar las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos y siga los procedimientos estándar para la disposición adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protección ocular cuando se analizan muestras.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Guarda en el envase a temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C). La prueba es estable hasta la fecha de caducidad localizada en la bolsa. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. **NO SE CONGEELE**. No se debe de utilizar después de la fecha de caducidad.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete (Sangre Total/Suero/Plasma) se puede realizar utilizando sangre total (de venopunción o punción en el dedo), suero o plasma.
- Para la **muestra de sangre total obtenida con un punción en el dedo**:
 - Lavar la mano del paciente con agua tibia y jabón o limpiar con un algodón con alcohol. Deje que se seque.
 - Masaje la mano sin tocar la zona de punción desde la raíz a la yema del dedo corazón o el anular.
 - Punzar la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
 - Frote suavemente la mano desde la muñeca al dedo, pasando por la palma, hasta que se forme una gota redonda de sangre en la zona de punción.
 - Agrega la sangre obtenida a la muestra usando un **tubo capilar**:
 - Toque el extremo del tubo capilar a la sangre hasta que se ha llenado aproximadamente 40 µL. Evita las burbujas de aire.
 - Coloque el bulbo en el extremo superior del tubo capilar y, a continuación, aprétela para trasladar la sangre total al área de muestra del casete.
 - Agrega la muestra de sangre total obtenida utilizando las gotas colgantes:
 - Coloque el dedo del paciente de modo que la gota de sangre se sitúe encima del área de muestra del casete.
 - Deje caer 1 gota colgante de sangre total obtenidas con el pinchador en el centr del área de muestra del casete, o coloque el dedo de manera que la gota colgante toca el centro de la superficie de la muestra. Evite que el dedo que directamente la área de muestra.
- Separar el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. solamente usa claras muestras no hemolizadas.
- La prueba debe realizarse inmediatamente después de que los especímenes han sido recogidos. No deje las muestras a temperatura ambiente por períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma pueden conservarse a 2-8°C durante un máximo de 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de 20°C. La sangre total extraída por venopunción debe ser almacenado a 2-8°C si la prueba se va a correr el plazo de 2 días desde la recolección. No congele las muestras de sangre total. La sangre total extraída por punción en el dedo debe ser probado de inmediato.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezcladas bien antes de la prueba. Las muestras no deben ser congeladas y descongeladas repetidamente.
- Si las muestras deben ser enviadas, deben ser empacados en cumplimiento con las regulaciones federales para el transporte de agentes etiológicos.

MATERIALES

- Casete de Prueba
- Gotosos
- Buffer
- Ficha Técnica
- Materiales Necesarios Pero No Contenidos
- Contenedores de colección de muestras
- Centrífugo (solamente para plasma)
- Temporizador
- Lancetas (solamente para la muestra de sangre total obtenida con un punción en el dedo)
- Tubos capilares heparinizados y bulbo de dispensación (solamente para la muestra de sangre total obtenida con un punción en el dedo)

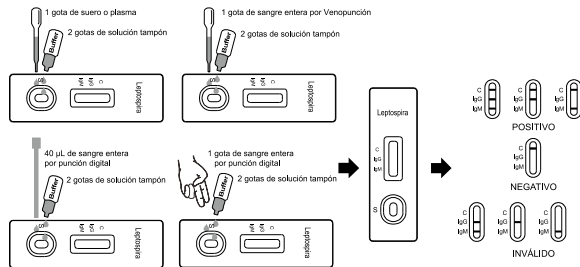
INSTRUCCIONES DE USO

Permite que el casete de prueba, la muestra, y/o los controles lleguen a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de la prueba.

1. Deje que la bolsa llegue a temperatura ambiente antes de abrirlo. Retire el casete de

prueba de la bolsa sellada y utilizarlo lo antes posible. Los mejores resultados se obtienen si el ensayo se realiza dentro de una hora.

2. Coloque el casete en una superficie limpia y plana.
 - Para muestra de **Suero o Plasma**: Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 1 gota de suero o plasma (aproximadamente 40 µL) a la área de la muestra, agrega 2 gotas de buffer (aproximadamente 80 µL), y inicia el temporizador. Véa la ilustración abajo.
 - Para la **Venopunción Muestra de Sangre Total**: Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 1 gota de sangre total (aproximadamente 40 µL) a la área de la muestra, agrega 2 gotas de buffer (aproximadamente 80µL), y inicia el temporizador. Véa la ilustración abajo.
 - Para la **muestra de sangre total obtenida con un punción en el dedo**:
 - Para utilizar un tubo capilar: Llena el tubo capilar y transfirir aproximadamente 40 µL de sangre total obtenida con un punción en el dedo a la área de la muestra del casete, a continuación, agrega 2 gotas de buffer (aproximadamente 80 µL) y inicia el temporizador. Véa la ilustración abajo.
 - Para usar las gotas colgantes: Permite 1 gota colgante de sangre total obtenida con un punción en el dedo (aproximadamente 40 µL) que caiga en la área de la muestra del casete, a continuación, agrega 2 gotas de buffer (aproximadamente 80 µL) y inicia el temporizador. Véa la ilustración abajo.
3. Espere a que la línea(s) de color aparezcan. Lea los resultados en 15 minutos. No interprete el resultado hasta después de los 20 minutos.



INTERPRECIÓN DE LOS RESULTADOS

(Por favor consulte la ilustración arriba)

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

NOTA: La intensidad del color en la (s) región (es) IgG e IgM variará dependiendo de la concentración de anticuerpos de *Leptospira* presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de rojo en la (s) región (es) IgG e IgM debe considerarse positivo.

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

INVALIDO: Línea de control no aparece. volumen de muestra insuficiente o incorrecta son las razones más frecuentes del fallo de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar la prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

Controles de procedimiento internos están incluido en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es el control interno del procedimiento. Confirma que hay suficiente volumen de muestra y la técnica empleada es la correcta. Normas de control no están incluido con este kit. De todas maneras, se recomienda realizar controles positivo y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar el comportamiento adecuado de la prueba.

LIMITACIONES

- 1.El procedimiento de ensayo y la interpretación de resultados de pruebas deben ser seguidos cerca cuando se prueba la presencia de anticuerpos de *L.interrogans* patógenos en suero, plasma o sangre total de los sujetos individuales. Si no sigue el procedimiento puede dar resultados inexactos.
- 2.La Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete (Sangre Total/Suero/Plasma) está limitada a la detección cualitativa de anticuerpos *Leptospira interrogans* en suero humano, plasma o sangre entera. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.
- 3.Un resultado negativo para un sujeto individual indica la ausencia de anticuerpos *Leptospira interrogans* detectables. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición a *Leptospira interrogans*.
- 4.Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de los anticuerpos *Leptospira interrogans* presentes en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad cuando se recoge una muestra.
- 5.Algunas muestras que contienen inusualmente alto título de anticuerpos heterófilos o el factor reumatoide pueden afectar a los resultados previstos.
- 6.Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben interpretarse en conjunción con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgo clínico.

VALORES PREVISTOS

La *Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete* (Sangre Total/Suero/Plasma) se ha comparado con una prueba comercial líder *Leptospira IgG ELISA*, *Leptospira IgM ELISA*. La correlación entre estos dos sistemas es 98%.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Sensibilidad y Especificidad

Un total de 230 muestras de sujetos susceptibles fueron probados por la *Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete* (Sangre Total/Suero/Plasma) y un kit comercial *Leptospira IgM ELISA*. La comparación de todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla.

| Método | IgM Resultados | | Resultados Total |
|--|----------------|-------|------------------|
| | Resultados | ELISA | |
| Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete (Sangre Total/Suero/Plasma) | Positivo | 9 | 12 |
| | Negativo | 1 | 217 |
| Resultados Total | | 10 | 220 |

Sensibilidad Relativa: 90.0% (95%CI:*55.5%-99.7%)

Especificidad Relativa: 98.6% (95%CI:*96.1%-99.7%)

Precisión: 98.3% (95%CI:*94.7%-98.9%)

* Intervalo de confianza

Un total de 239 muestras de sujetos susceptibles fueron probados por la *Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete* y un kit comercial *Leptospira IgG ELISA*. La comparación de todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla

| Método | IgG Resultados | | Resultados Total |
|--|----------------|-------|------------------|
| | Resultados | ELISA | |
| Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete (Sangre Total/Suero/Plasma) | Positivo | 15 | 18 |
| | Negativo | 1 | 220 |
| Resultados Total | | 16 | 223 |

Sensibilidad Relativa: 93.8% (95%CI:*69.8%-99.8%)

Especificidad Relativa: 98.7% (95%CI:*96.1%-99.7%)

Precisión: 98.3% (95%CI:*95.8%-99.5%)

*Intervalo de confianza

Precisión Intraensayo

La precisión interna se determinó mediante el uso de 20 réplicas de cinco especímenes: un negativo, un *Leptospira IgM* de bajo título positivo, un *Leptospira IgM* de alto título positivo,

un Leptospira IgG de título bajo positivo y un Leptospira IgG de título alto positivo. El negativo, un Leptospira IgM de bajo título positivo, un Leptospira IgM de alto título positivo, un Leptospira IgG de bajo título positivo y un Leptospira IgG de alto título positivo se identificaron correctamente el 100% del tiempo.

Interensayo

La precisión entre corridas ha sido determinada por 20 ensayos independientes en los mismos cinco especímenes: un negativo, un Leptospira IgM de bajo título positivo, un Leptospira IgM de alto título positivo, un Leptospira IgG de bajo título positivo y un Leptospira IgG de título alto positivo. Se probaron tres lotes diferentes de Leptospira IgG / IgM Rapid Test Cassette (sangre total / suero / plasma) en un periodo de 3 días con resultados negativos, un Leptospira IgM de bajo título positivo, un Leptospira IgM de título alto positivo, un Leptospira IgG bajo título positivo y un Leptospira IgG alto título positivo especímenes. Los especímenes fueron identificados correctamente el 100% del tiempo.

Reactividad Cruzada

Leptospira IgG/IgM Prueba Rápida de Casete (Sangre Total/Suero/Plasma) ha sido probado por HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HbCAb, sífilis, VIH, H. Pylori, MONO, CMV, la rubéola y la toxoplasmosis (TOXO) especímenes positivos. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Sustancias que Pueden Interferer

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras negativas y positivas de Leptospira interrogans.












| | |
|----------------------------------|---------------------------|
| Acetaminofén: 20 mg/dL | Cafeína: 20 mg/dL |
| Ácido Acetilsalicílico: 20 mg/dL | Acido Gentísico: 20 mg/dL |
| Ácido Ascórbico: 2g/dL | Albúmina: 2 g/dL |
| Creatina: 200 mg/dL | Hemoglobina: 1000mg/dL |
| Bilirrubina: 1g/dL | Ácido Oxálico: 60mg/dL |

Ninguna de las sustancias en las concentraciones indicadas provocaron interferencias en el análisis

BIBLIOGRAFÍA

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

Index of Symbols

| | | | |
|--|---|--|---------------|
|  | Consult Instructions for Use |  | Tests per kit |
|  | For <i>in vitro</i> diagnostic use only |  | Use by |
|  | Store between 2-30°C |  | Lot Number |
|  | Do not use if package is damaged |  | Manufacturer |
|  | Authorized Representative |  | Do not reuse |
|  | Catalog # | | |

 **ACRO BIOTECH, Inc.**
9500 Seventh Street,
Unit M, Rancho Cucamonga,
CA 91730, U.S.A.



 **MedNet GmbH**
Borkstrasse 10
48163 Muenster
Germany

DN:
Rev. Date: