

**MODALIDAD DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA**



**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 Licenciado en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Zika, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio

Autora:

Martha Yolanda Gualán Cango

Tutora:

MsC. Yisela Carolina Ramos Campi

Riobamba – Ecuador

2021

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Zika, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio, dirigido por: la MsC. Yisela Carolina Ramos Campi, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final escrito del proyecto de investigación con fines de graduación en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH.

Para constancia de lo expuesto firman:

Mgs. Ximena del Rocío Robalino Flores

Presidente del Tribunal



Firma

Mgs. Eliana Elizabeth Martínez Duran

Miembro del Tribunal



Firma

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

Miembro del Tribunal



Firma

CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, MsC. Yisela Carolina Ramos Campi, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado: “Zika, caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio”, propuesto por Martha Yolanda Gualán Cango, 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 apto para la defensa pública del proyecto.

Riobamba, 30 de noviembre de 2021



.....

MsC. Yisela Carolina Ramos Campi

Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido de este trabajo de investigación, corresponde exclusivamente a su autora Martha Yolanda Gualán Cango con cédula de identidad 1150971594 y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.



.....
Martha Yolanda Gualán Cango

CI: 1150971594

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Chimborazo (Unach) que me supo acoger, así poder formarme profesionalmente tanto académica como humanística y de esta manera, servir a la sociedad en el diagnóstico y prevención de enfermedades. A todos los docentes por impartir sus conocimientos día a día en los distintos semestres, agradezco por su comprensión, su paciencia y afecto que me han brindado, guiándonos a ser buenos profesionales de la salud.

A la MsC. Yisela Ramos, tutora de proyecto de investigación por su dedicación, por su tiempo brindado, por el apoyo en el proceso de la realización del proyecto investigativo, para de esta forma, llegar al resultado anhelado.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo investigativo en primer lugar a Dios, que me ha dado fortaleza y vitalidad en los momentos difíciles para continuar con mis estudios, a mi papá por su apoyo incondicional, sus consejos que me han guiado por el camino correcto de mi vida, a mi mamá por su cariño, su amor, su comprensión me han ayudado a formarme con buenos valores y, por último, a mi hermana que ha sido siempre mi compañía, mi apoyo en mi carrera universitaria.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
Historia del virus Zika.....	4
Vector.....	5
Patogenia.....	5
Transmisión del virus Zika	6
Transmisión vectorial	6
Transmisión materno - fetal.....	7
Transmisión sexual	7
Transmisión por transfusión sanguínea.....	7
Caracterización clínica	7
Complicaciones asociadas al virus del Zika	8
Microcefalia	8
Síndrome de Guillain-Barré (GBS)	9
Diagnóstico de laboratorio	9
Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.....	9
Reacción en cadena de polimerasa en tiempo real	11
La amplificación isotérmica mediada por bucle	12
Anticuerpo neutralizante	12
Aislamiento viral	13
Tratamiento	13
Control y prevención	14
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	15
Tipo de investigación	15
Población.....	15
Muestra.....	15
Criterios de inclusión y exclusión	16

Métodos de estudio.....	16
Técnicas y Procedimientos	16
Procesamiento estadístico	17
Consideraciones éticas	17
CAPÍTULO III.DESARROLLO	19
Signos y síntomas de Zika	19
Complicaciones asociadas al virus durante el embarazo	23
Diagnóstico de laboratorio.....	27
CONCLUSIONES.....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización clínica	20
Tabla 2. Complicaciones asociados al virus del Zika durante el embarazo	23
Tabla 3. Sensibilidad y especificidad de las pruebas de laboratorio	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Algoritmo de diagnóstico serológico de casos sospechosos de Zika	10
Figura 2. Algoritmo de diagnóstico virológico de casos sospechosos de Zika.....	11

RESUMEN

Zika es una enfermedad viral considerado como un problema de salud pública, transmitida principalmente por la picadura del mosquito *Aedes aegypti*. El objetivo del proyecto de investigación fue especificar mediante información bibliográfica la caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio de Zika a través de artículos científicos, libros y páginas web. La investigación se realizó bajo un diseño documental bibliográfico de nivel descriptivo, no experimental. A partir de una población de 115 fuentes bibliográficas que fueron depurados tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión hasta obtener una muestra de 68, tomados de diferentes bases de datos científicos. Los resultados obtenidos muestran que Zika se caracteriza clínicamente por presentar, exantema maculopapular, fiebre menor a 39 ° C, prurito, conjuntivitis, artralgia, mialgia, dolor de cabeza y edema. Sin embargo, al contagiarse en estado de gestación principalmente durante el primer trimestre puede desarrollar complicaciones congénitas, neurológicas o autoinmunes. El diagnóstico se realiza a través de métodos serológicas como las pruebas inmunocromatográficas y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas para la detección de anticuerpos a partir del quinto día del inicio de los síntomas, pero existe el inconveniente de las reacciones cruzadas con otros flavivirus. Las pruebas moleculares son catalogadas como estándares por presentar mayor sensibilidad y especificidad utilizadas durante la fase aguda de la enfermedad. Se concluye que el Zika causa una infección leve y autolimitada, solo el 20% presenta síntomas muy similares a dengue y *chikungunya* que dura entre 2 a 7 días, por lo tanto, su diagnóstico se torna complicado.

Palabras Clave: Zika, *Aedes aegypti*, exantema maculopapular, PCR en tiempo real.

ABSTRACT

Zika is a viral disease considered a public health problem, transmitted mainly by the bite of the *Aedes Aegypti* mosquito. This research project aimed to specify by means of bibliographic information the clinical characterization and laboratory diagnosis of Zika through scientific articles, books and web pages. The investigation was carried out under a descriptive, non-experimental, bibliographic documentary design. Starting from a population of 115 bibliographic sources that were filtered taking into account the inclusion and exclusion criteria until obtaining a sample of 68, taken from different scientific databases. Results obtained show that Zika is clinically characterized by maculopapular rash, fever less than 39 ° C, pruritus, conjunctivitis, arthralgia, myalgia, headache and edema. When infected during pregnancy, however, mainly during the first trimester, congenital, neurological or autoimmune complications may develop. Although the diagnosis is made by serological methods such as immunochromatographic tests and enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies from the fifth day after the onset of symptoms, there is the drawback of cross-reactions with other flaviviruses. These molecular tests are considered standard because of their higher sensitivity and specificity when used during the acute phase of the disease. We conclude that Zika causes a mild and self-limited infection, with only 20% presenting symptoms very similar to Dengue and Chikungunya and lasting between 2 to 7 days, therefore, its diagnosis becomes complicated.

Keywords: Zika, *Aedes Aegypti*, maculopapular rash, real-time PCR



Firmado electrónicamente por:
**JOSE MANUEL
RUIZ CEPEDA**

Reviewed by: Lic. José Ruiz C.

English professor.

c.c. 180179272

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El Zika es una enfermedad infecciosa producida por el virus Zika (ZIKV), transmitida principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*. Fue descubierto por primera vez en el año 1947 en el bosque de Uganda llamado Zika. Pertenece al género Flavivirus y a la familia *Flaviviridae*, que incluye otras 52 especies virales como, el dengue, *chikungunya*, la fiebre amarilla y el virus del Nilo Occidental ^{1,2,3}.

Existen diferentes formas de transmisión; vectorial (mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*), madre-hijo, transfusión sanguínea, relaciones sexuales y según investigaciones también se ha logrado aislar el virus en saliva y leche materna pero no existe evidencia de contagio por estos medios ^{2,4}.

Esta enfermedad se caracteriza por presentar fiebre menor a 39°C, exantema maculopapular que comienza en el rostro, luego se extiende por todo el cuerpo, edema en miembros inferiores, cefalea, artralgia, mialgia, astenia, conjuntivitis no purulenta, los síntomas y signos menos frecuentemente son: anorexia, vómito, diarrea y dolor abdominal, estas manifestaciones tienen una duración de 2 a 7 días ^{1,4}.

La mayoría de las personas tras infectarse cursan por un cuadro clínico leve, sin embargo, las mujeres en estado de gestación al contagiarse, pueden desarrollar complicaciones, debido a que el virus puede traspasar la placenta y provocar malformaciones congénitas o neurológicas, el más común la microcefalia caracterizada por una cabeza más pequeña de lo normal, el síndrome de Guillain Barré (SGB) es una enfermedad que ataca los nervios periféricos causando debilidad incluso parálisis en algunas partes del cuerpo ^{1,4}.

Para el diagnóstico se utilizan ensayos serológicos como el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para detectar anticuerpos inmunoglobulina M (IgM) o inmunoglobulina G (IgG) frente al virus, utilizadas a partir del día 5 o 6 tras el establecimiento del cuadro clínico pero estas pruebas tienen mayor reacción cruzada con otros los flavivirus (dengue o *chikungunya*). La prueba molecular más utilizado es la reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (RT-PCR), seguido de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) que también tiene una alta sensibilidad y especificidad, se

recomienda realizar esta prueba durante los primeros 5 días tras el inicio del cuadro clínico (fase aguda) ⁵.

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud asevera que la transmisión por vector está presente en 60 países del mundo, comprendida la mayor parte de América Central y del Sur, Sudeste de Asia, Oceanía y el Pacífico, así como en África, Cabo Verde y Guinea Bissau. Según los informes de actualización epidemiológica emitida por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en la Región de las Américas entre la semana 1 y la semana 22 de 2021, se informó un total de 6012 casos de Zika, incluida una muerte notificada en Brasil. De los casos confirmados, la más alta proporción de casos sospechosos se informó en Brasil con 5092, seguido de Guatemala con 522 y Paraguay con 112 casos. Se ha confirmado transmisión local en todos los territorios de América a excepción por Chile, Uruguay y Canadá ^{3,4,6}.

En Ecuador según el informe de Subsecretaria de Vigilancia de la Salud Pública hasta la semana 32 del año 2017 se ha confirmado 2192 casos, también se ha informado casos autóctonos en 17 de 24 provincias del Ecuador. Según el Ministerio de Salud Pública del Ecuador las tasas más altas de esta infección se informaron en las provincias de Esmeraldas, Guayas, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas, se ha reportado un promedio semanal de 68 casos, siendo los más afectados de sexo femenino (72,54%) de edades comprendidas de 20 a 49 años ^{7,8}. En los últimos años no se han reportado nuevos casos ⁶.

De acuerdo al informe de la OMS hasta la semana 32 del año 2017, se confirmaron 912 casos en mujeres embarazadas, con el mayor número de casos la provincia de Guayas con 329 casos, en cuanto a las complicaciones se reportó 2 casos de síndrome de Guillain-Barré (SGB) y un caso de encefalitis en la provincia de El Oro y 7 casos con síndrome congénito, 3 casos en Manabí, 2 en los Ríos, 1 en Guayas y Santo Domingo de los Tsáchilas ⁸.

Según la Subsecretaria de Vigilancia de la Salud Pública en Ecuador, desde el año 2016 hasta la semana 14 del año 2018, se ha reportado 17 niños con transmisión vertical, procedentes de las provincias de Manabí, El Oro, Guayas y Santo Domingo de los Tsáchilas. Se ha confirmado 20 casos de microcefalia y 1 caso de malformación congénita sin microcefalia; 5 casos en Manabí, 2 en los Ríos, 8 en Guayas, 1 caso en Santo Domingo de los Tsáchilas, 2 casos en Pichincha, 2 casos en El Oro y 8 casos en Guayas. Respecto a

Síndrome Guillaín Barré se reportó 2 casos; 1 en Santa Elena y 1 en Nueva Loja-Sucumbíos. En el año 2020 y 2021 no se han reportado casos de Zika ⁹.

En la Provincia de Chimborazo según la información emitida por el Ministerio de Salud Pública en 2016 se detectó 1 caso, en 2017 se notificó 3 casos, en 2018 no se confirmó ningún caso. No se ha encontrado información actualizada en bases de datos acerca del tema debido a que no es endémico en dicha provincia ⁹.

La enfermedad causada por este virus es un problema global importante, controlar o prevenir esta enfermedad es muy difícil en países tropicales o subtropicales ya que hasta hoy en día no existe ninguna vacuna que ayude a la prevención de este padecimiento, solo existe algunas medidas de protección personal. En la actualidad, según datos de la OMS, más de 29 países de América Latina han confirmado la enfermedad ^{10, 11}.

El cuadro clínico es muy similar al dengue no grave y al *chikungunya*, razón por la cual, su diagnóstico se torna complicado. El problema limitante es que muy pocos laboratorios cuentan con pruebas de biología molecular, por los recursos económicos que esta requiere para su funcionamiento, la PCR en tiempo real es considerado como la prueba estándar para el diagnóstico del Zika por su alta sensibilidad y especificidad, las pruebas serológicas como ELISA y los ensayos de inmunocromatografía de flujo lateral son más económicas y fáciles de realizar, pero suelen haber reactividad cruzada con otras enfermedades ⁴.

Las complicaciones asociadas a la infección por Zika van desde enfermedades autoinmunes hasta malformaciones congénitas. Según los datos de una investigación realizada, casi un tercio de las mujeres embarazadas infectadas, desarrollan complicaciones neurológicas como la microcefalia de 1 al 13% durante el primer trimestre y tiene un menor riesgo durante el segundo y tercer trimestre, también puede desarrollar alteraciones del sistema nervioso central, aborto prematuro entre otras ¹².

Hasta la fecha no se cuenta con un tratamiento específico ni con vacunas, su diagnóstico se torna complicado debido a que las pruebas que se realizan comúnmente suelen tener reacciones cruzadas como otras enfermedades, incluso suele producir síntomas muy similares al dengue y *chinkungunya*, de ahí su importancia de que la población este a tanto

de las manifestaciones clínicas y pruebas de laboratorio adecuados para un diagnóstico certero y así ayudar en la prevención de complicaciones en las mujeres en estado de gestación⁴.

CAPÍTULO I, corresponde a la introducción, marco teórico en el que se despliega las fundamentaciones científicas y el soporte conceptual que permite comprender la caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio del virus Zika.

CAPÍTULO II, concierne al marco metodológico, utilizada en este estudio: tipo de investigación, población; muestra, criterios de inclusión y exclusión, procedimientos para la recolección de datos, las técnicas e instrumentos aplicados y consideraciones éticas.

En el CAPÍTULO III corresponde al desarrollo, en la que se refleja los resultados obtenidos tras la revisión bibliográfica y las discusiones de las mismas con otros autores y por último las conclusiones en base a los objetivos planteados.

El presente proyecto tuvo como objetivo, especificar mediante información bibliográfica la caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio del Zika a través de la revisión de artículos científicos, libros y páginas web, puesto que es un tema de importancia mundial, en vista de que su diagnóstico se hace difícil, pues solo el 20% de los pacientes presentan síntomas muy similares al dengue no grave por lo que suele confundirse y el 80% pasa desapercibido.

Historia del virus Zika

Fue descubierto por primera vez en un mono Rhesus, en la selva Zika de Uganda (África), en el año 1947, cuando se realizaba una investigación acerca de la transmisión de la fiebre amarilla, fue aislado en humanos por primera vez en Nigeria en el año 1954 con la ayuda de estudios serológicos, aunque según los científicos se conoce desde hace más de cincuenta años, pero fue ignorado ya que solo infectó a un pequeño grupo de personas provocando secuelas mínimas^{1,4}.

El primer brote notorio se dio en el año 2007 en isla Yap, Estados federados de Micronesia, fue la primera vez que el virus se confirmó fuera de África y Asia. En 2013 se notificó un brote grande en la Polinesia Francesa con 32000 casos y un aumento de 40 veces el número

de casos con el síndrome de Guillain-Barré (SGB). En febrero del 2015 llegó a América, específicamente al noreste de Brasil provocando un brote más grande de la historia humana, se confirmaron más de 1.5 millones de casos ^{3, 4, 12}.

La transmisión del virus a otros 29 países de América se informó en 2016 (**Anexo 1**). En ese mismo año, la OMS declaró al virus como una emergencia de salud pública de importancia internacional, debido a las complicaciones congénitas que puede provocar especialmente en las mujeres gestantes. En el año 2017 se confirmaron 209.628 casos en Estados Unidos ^{3, 13}.

Vector

El principal vector es el mosquito *A.aegypti*, agente causal también del dengue, *chikungunya* y la fiebre amarilla. *A. albopictus* se ha considerado como el vector secundario de esta enfermedad que se originó en Asia. *A. hensilli* vector responsable del brote en la isla Yap y *A. polynesiensis* fue responsable del brote de la Polinesia Francesa. Los dos principales tipos de *Aedes* están más activos durante las horas del día que de la noche y están distribuidos en regiones tropicales y subtropicales de los diferentes países del mundo, permanecen en territorios asiáticos y americanos ^{12, 14}.

Una de las principales características del *A.aegypti*, es la capacidad de los huevos para resistir la desecación y conservarse viables, durante algunos meses. Por ejemplo, al eliminar de un sitio, todos los huevos, las larvas, pupas y mosquitos adultos, se recuperaría luego de dos semanas como resultado de la eclosión de los huevos después de una lluvia o agregación de agua a contenedores que hospedan a los huevos ¹⁵.

Patogenia

La patogenia de la infección por el virus es muy poco conocida, pero se ha puntualizado que tiene una fuerte atracción cutáneo (ectodermo). Los componentes celulares del sistema inmunitario son muy susceptibles frente a la enfermedad por el virus Zika, razón por la cual, tendrían una relación en su entrada al organismo ¹⁵.

El ingreso del virus a la célula del huésped, se da de la siguiente manera; su introducción esta mediada por la proteína E, presente en la envoltura del virus, la cual se une a receptores específicos permitiendo la fijación y fusión de la partícula viral a la célula del huésped. Mediante el proceso de endocitosis el virus entra al citoplasma de las células. Las proteínas

no estructurales se unen al retículo endoplasmático formando un complejo que permite la replicación del ARN viral. La replicación se desarrolla principalmente en el citoplasma, aunque también se ha encontrado ARN viral en el núcleo de la célula. Luego las células pasan por un proceso de apoptosis, lo que produce la liberación de partículas virales, llegando al sistema linfático y a la sangre desde donde se disemina produciendo el cuadro clínico ¹⁵.

Transmisión del virus Zika

Transmisión vectorial

El virus Zika es transmitido por artrópodos (arbovirus) es decir por vectores mosquitos. Existen dos ciclos de transmisión un ciclo selvático en el que el virus circula entre primates no humanos y los mosquitos arbóreos y un ciclo urbano en la que el virus circula entre población humana y los mosquitos *Aedes* ¹⁷.

La transmisión vectorial comienza cuando el mosquito *Aedes.aegypti* ingiere sangre contaminada de un huésped infectado, contaminando el intestino del mosquito y extendiéndose hasta sus glándulas salivales, proceso que dura de 8 a 10 días, transcurrido este tiempo, las hembras pueden transmitir el virus por picadura provocando la caracterización clínica, el vector infectado puede traspasar el virión en un promedio de 20 a 30 días ^{12,14}.

El ciclo de vida del mosquito dura de 7 a 10 días hasta convertirse en adulto, comienza la primera fase cuando el mosquito infectado pone los huevos en lugares acuosos. Luego de 2 a 3 días pasa a ciclo de la larva, aquí su desarrollo es totalmente acuático, pero para ello va depender de la temperatura, puede demorarse hasta 7 días. Después pasa a la fase de pupa, manteniéndose en la superficie del agua hasta alcanzar las características anatómo-fisiológicas para emerger del agua, tiene una duración de 1 a 3 días. En la última fase el mosquito adulto permanece en reposo en la superficie donde se encuentra almacenado y a las 24 horas posteriores inicia la fase reproductora y a continuación la alimentación. Los mosquitos hembras pueden llegar a poner unos 200 huevos esparcidos en distintos lugares cerca de la superficie del agua, al subir el nivel de agua permite que estos maduren, eclosionen y vuelve a repetirse el ciclo ¹⁶ (**Anexo 2**).

Transmisión materno - fetal

El virus es capaz de traspasar la placenta infectando el sistema nervioso fetal. El mecanismo exacto aún se desconoce, pero se ha logrado aislar el ARN viral en el líquido amniótico, orina y suero de las madres cuyos fetos poseían anomalías cerebrales, también se ha encontrado al sondear las proteínas, partículas virales en la placenta, cerebro o suero sanguíneo de los recién nacidos. El virus puede transmitirse por la leche materna, pero hasta la actualidad no existe casos confirmados de recién nacidos infectados mediante la lactancia materna ¹⁶.

De acuerdo al investigador Fuentes y colaboradores mencionan que las proteínas de la superficie viral se ensamblan a receptores específicos en la membrana celular de las células huésped y empiezan con ello el desarrollo de la infección. Durante el embarazo, las particularidades moleculares de estas proteínas pueden determinar las células diana específicas en la placenta, lo que puede explicar las diferentes complicaciones ^{17,18}.

Transmisión sexual

El virus Zika puede transmitirse mediante relaciones sexuales de hombre a mujer o viceversa, también de hombre a hombre, la transmisión se ha dado hasta 44 días después del inicio de los síntomas, en el semen se han aislado hasta 69 días luego del inicio del cuadro clínico y se ha logrado detectar en el tracto genital femenino hasta 2 días posterior a la aparición de la caracterización clínica^{12, 13}.

Transmisión por transfusión sanguínea

Otra forma de transmisión de bajo riesgo y con un efecto clínico corto es a través de transfusiones sanguíneas, principalmente concentrados de hematíes y plaquetas. En un estudio realizado en Polinesia Francesa evidenció que el 3% de los donantes asintomáticos dieron positivos para zika ^{12, 19}. Por otra parte según investigaciones el virus también se ha encontrado en saliva y orina, pero no hay notificaciones de su transmisión a través de estas vías ¹⁶.

Caracterización clínica

El virus del Zika produce una enfermedad infecciosa de leve intensidad y autolimitada, solo el 20% de la población infectada presenta síntomas, que puede durar de 2 a 7 días depende

el sistema inmunológico de cada persona. Los signos y síntomas más comunes que aparece a los 3 y 14 días después de la picadura del mosquito infectado son: ^{1, 12,14}

- Erupción maculo-papular
- Fiebre menor 39 ° C
- Conjuntivitis
- Artralgia
- Mialgias
- Prurito
- Dolor de cabeza leve
- Dolor retro- ocular
- Edema articular
- Dolor abdominal
- Estreñimiento
- Diarrea
- Anorexia
- Náusea

Según estudios, el virus también puede afectar el tubo digestivo, el bazo, los ganglios linfáticos, sistema cardiopulmonar, médula espinal, sistema génito-urinario y el líquido cefalorraquídeo, además se han confirmado que en la mujer puede afectar el sistema reproductor, en varones testículos, próstata y vesículas seminales ³.

Debido a que esta enfermedad comparte ciertas similitudes en su cuadro clínico con dengue y *chikungunya* es importante de diferenciarlos para un diagnóstico más certero, para distinguir hay ciertas particularidades que sobresalen en cada uno de las tres enfermedades así como la conjuntivitis no purulenta no está presente en *chikungunya* ni en dengue, el edema en extremidades no está presente en el dengue tampoco en *chikungunya* pero si en zika, la artralgia es en menor en dengue y *chikungunya*, el rash es pruriginoso en zika ⁴ (**anexo 3**).

Complicaciones asociadas a la infección por el virus del Zika

Microcefalia

Es una anomalía neurológica, los bebés desarrollan una cabeza más pequeña de lo normal, la enfermedad se caracteriza por discapacidades intelectuales, convulsiones, retraso en el desarrollo, problemas de visión y audición. Puede ser diagnosticada en el útero o después del nacimiento. Según los científicos, la razón es que la infección por Zika desvía una proteína muy importante llamado tirosina proteína quinasa no receptora (fosto-TNK1) indispensable para la división de las células neuronales en el desarrollo del feto lo que provoca este síndrome congénito ^{3,12}.

Síndrome de Guillain-Barré (GBS)

Es una enfermedad autoinmune en la que el sistema inmunológico ataca el sistema nervioso periférico induciendo debilidad muscular, parálisis, hormigueo, pérdida de sensibilidad y percepción del dolor e incluso puede causar la muerte. Según estudios la razón sería que el virus podría tener una reacción cruzada con algunas proteínas cerebrales y otras moléculas las cuales podrían favorecer a las secuelas neuropatológicas, en el caso del GBS asociado a la infección los títulos elevados de anticuerpos contra el virus podrían provocar una reactividad cruzada entre el componente del Zika y los gangliósidos de la membrana neuronal ^{17,20}.

Otras complicaciones asociadas con la infección son la encefalitis, mielitis y meningoencefalitis, esta última puede ocurrir en muy pocas ocasiones. Sin embargo, en los fetos son mucho más graves las alteraciones, incluso puede causar ceguera, hemorragias intrarretinianas, en ciertos casos muerte embrionaria y abortos ¹².

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico se puede realizar utilizando las pruebas serológicas como ELISA que detecta anticuerpos específicos del antígeno viral (IgG o IgM) en el suero del paciente, pero los métodos serológicos deben confirmarse con otras pruebas por la reactividad cruzada como otros flavivirus. Las pruebas moleculares como la PCR en tiempo real y la amplificación isotérmica mediada por bucle son consideradas estándares por presentar mayor sensibilidad y especificidad, detectan ácidos nucleicos específicos del virus en las muestras de sangre u orina ^{5,21}.

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

Para el diagnóstico serológico es más recomendable la técnica MAC ELISA recomendado para la detección de anticuerpos IgM específicos contra Zika a partir del día 6 del inicio de los síntomas. Según estudios las pruebas serológicas tienen más probabilidad de reactividad cruzada con otros flavivirus, así por ejemplo cuando se vacuna o se infectan anteriormente con otros virus similares como el dengue. Las pruebas rápidas inmunocromatográficas para detectar anticuerpos también son muy utilizadas debido a que son más económicas y fáciles de realizar, en el (**anexo 4**) se encuentra el inserto de una prueba rápida ^{22,23}.

En la guía de diagnóstico para la región de las Américas, la OPS indica que el diagnóstico a partir de una única muestra en fase aguda no es definitivo, por lo que se debe tomar una segunda muestra una a dos semanas después de la primera muestra. Para el análisis serológico se ha emitido algoritmo de diagnóstico (Figura 1) ²³.

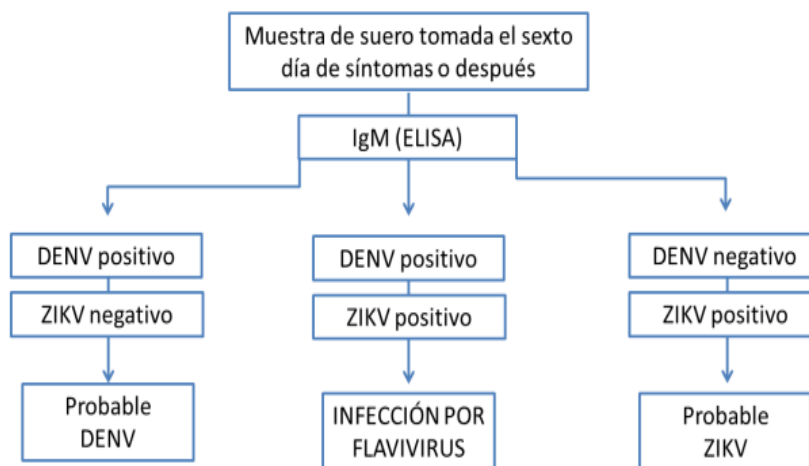


Figura 1. Algoritmo de diagnóstico serológico de casos sospechosos de Zika

Fuente: OPS, Vigilancia del virus Zika en las Américas

La prueba de ELISA (MAC-ELISA) se utiliza ampliamente para detección cualitativa de anticuerpos IgM en suero o líquido cefalorraquídeo (LCR), estos anticuerpos son detectados en suero posterior a los 4 días del inicio de los síntomas y son detectables desde 2 a 12 semanas ²⁴.

Para la realización de esta prueba se utiliza placas de reacción de 96 pocillos recubiertos con IgM antihumana. A continuación, se añade el suero del paciente y después el antígeno viral no infeccioso conocido. La presencia del antígeno se revela mediante la utilización de un anticuerpo antiviral conjugado con una enzima. Produciendo un resultado colorímetro por la unión de la enzima y el sustrato cromogénico. La lectura de la reacción se realiza utilizando un espectrofotómetro (ELISA) ²⁵.

Los resultados se interpretan en función de la proporción de intensidad de color en el pocillo, estos resultados deben ser confirmados con otras pruebas como la prueba de neutralización mediante reducción en placa, además se debe relacionar con la caracterización clínica e información epidemiológica. Los resultados negativos pueden deberse a que se ha tomado la muestra antes del día cuatro posterior a la aparición del

cuadro clínico o después del cierre de la ventana de IgM detectable ²⁵. En el (**anexo 5**) se encuentra el inserto para la realización de la prueba MAC ELISA.

Reacción en cadena de polimerasa en tiempo real

Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) es un método sensible y específico para la detección del virus en la etapa aguda de la enfermedad, es decir hasta los 5 días y en algunas ocasiones hasta los 7 días desde el inicio de los síntomas, las muestras de suero deben ser tomadas en la fase inicial del padecimiento debido a que la virulencia es de corta duración que va de 5 a 11 días, según estudios el virus en la orina dura más tiempo que la viremia, en otras palabras se puede detectar el virus en orina por más tiempo ^{16,21}. En el (**anexo 6**) se encuentra el inserto para la realización de la RT-PCR.

En la guía de diagnóstico del zika en las Américas recomienda tomar muestra de suero entre 1 y 5 días, máximo hasta 7 días y la orina hasta el día 15 para ser procesadas por RT-PCR. Para la confirmación virológica de casos sospechosos de infección por Zika en áreas donde circulan otros arbovirus ha emitido algoritmo de diagnóstico como se observa en la (Figura 2) ²³.

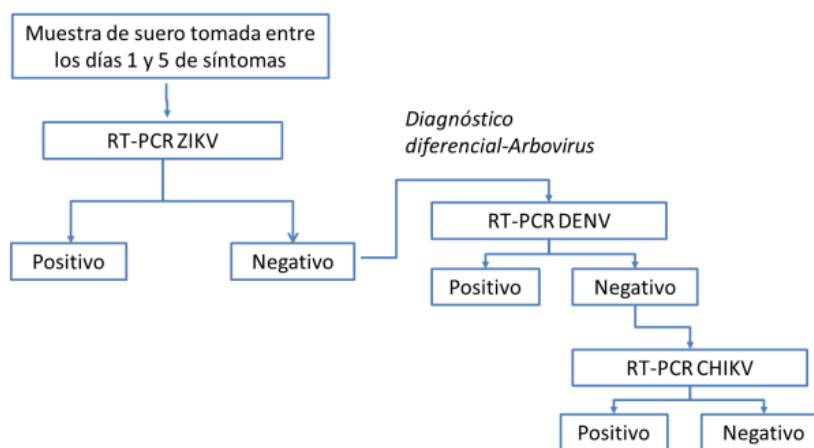


Figura 2. Algoritmo de diagnóstico virológico de casos sospechosos de Zika

Fuente: OPS, Vigilancia del virus Zika en las Américas

Según investigaciones se ha detectado presencia del ARN del virus en el plasma de una mujer embarazada entre las 4 y 10 semanas después del inicio cuadro clínico. Por lo que se debe considerar al embarazo como condición especial frente a la infección donde la viremia se puede prolongar más allá de los días usualmente observados en una persona normal ²⁶.

La amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP)

LAMP es un método alternativo de amplificación de ácido nucleico a una temperatura única, fija, rápida, sencilla, tiene muchas ventajas; rapidez, bajo costo, no requiere equipos costosos, alta sensibilidad y especificidad, se puede utilizar incluso en regiones del mundo con bajo recursos económicos. Además, los resultados de esta prueba se pueden leer a simple vista mediante indicadores basados en colores. Se puede realizar utilizando muestras de suero, semen, saliva, orina y homogeneizado de mosquitos²⁷.

La amplificación isotérmica mediada por bucle es un método de amplificación de ácido nucleico isotérmico que generalmente emplea un conjunto de cuatro o seis cebadores diferentes, que se unen específicamente a secuencias complementarias a la diana molecular. Este tipo de ensayo se puede realizar con fuentes de incubaciones simples y fáciles de conseguir como por ejemplo un baño de agua o un bloque calefactor²⁷.

Anticuerpo neutralizante

La prueba de neutralización mediante reducción en placa (PRNT) se utiliza para confirmar en pacientes con resultados positivos de anticuerpos IgM, ya que mide los valores de concentración de los anticuerpos neutralizantes en el suero del paciente. Se debe asegurar al menos un aumento de cuatro veces del título de anticuerpos neutralizantes frente al Zika. En ocasiones puede haber reactividad cruzada con otros flavivirus sobre todo con el dengue y en menor proporción con fiebre amarilla o virus del Nilo Occidental. Sin embargo, esta prueba es poco utilizada, muy pocos laboratorios la realizan debido a que requiere mucho tiempo que puede tardar de 2 a 3 semanas y es costosa^{24,28}.

Para realizar esta prueba primero se incuban diluciones del suero sanguíneo del paciente durante 1 hora a temperatura ambiente con una dosis estándar del virus Zika para que el anticuerpo específico se una al virus si ésta se encuentra presente, luego la mezcla se inocula en monocapas de cultivo celular y se deja absorber, después se cubre con un medio semisólido ,posterior a un periodo de incubación, se fijan , tiñen y se enumera las placas inducidas por el virus, por ejemplo 1/10, 1/20, 1/40,1/60,1/80. Si el anticuerpo neutralizante está presente, el virus Zika se neutralizará y se reducirá el número de placas. El punto final se define como la dilución del suero que da como resultado una reducción del 90% en las placas virales²⁸.

Aislamiento viral

El aislamiento viral se puede realizar mediante el uso de líneas celulares:

- **Células vero:** obtenido de riñón de mono verde africano *Cercopithecus aethiop.*
- **LLC-192 MK2:** línea celular obtenida de riñón de mono *Rhesus Macaca mulatta.*
- **C6/ 36:** líneas celulares de origen mosquito como *Aedes albopictus* ²⁶.

El crecimiento viral es determinado por el efecto citopático que presenta en el cultivo, así como la formación de anticuerpos de inclusión y la hemoadsorción, estos cambios se pueden observar en un microscopio de luz invertida de baja potencia, se debe buscar redondeamiento y contracción de las células, fusión o formación de sincitios, agregación, lisis o muerte celular y pérdida de adherencia. Pero no siempre existe el efecto citopático. La presencia del virus se determina en forma indirecta por medio de hemoaglutinación, inmunofluorescencia directa (IFD) o indirecta (IFI), la IFD es un método sencillo para identificar el aislamiento viral a través de la tinción con anticuerpos fluorescentes, la inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos fluorescentes sirve para la detección de anticuerpos antivirales ¹⁵.

Tratamiento

Hasta la actualidad no existe ningún medicamento antiviral. Para aliviar la sintomatología se utiliza tratamiento de apoyo como reposo, uso de líquidos para evitar la deshidratación debido a la fiebre, antipiréticos a excepción de la aspirina ya que aumenta el riesgo de sangrados y analgésicos para reducir el dolor. Para el prurito ocasionado por las erupciones se recomienda utilizar antihistamínicos. Se debe tomar en cuenta que puede producir una coinfección por el zika y dengue en la misma persona, pero en comparación con el dengue, la infección por el zika provoca un cuadro clínico más leve, el inicio de la fiebre es más sutil y dura menos ^{3,4}.

Desde la aparición del virus se han ido desarrollados algunos ensayos clínicos, logrando hasta hoy en día avances impresionantes. Pero todavía no existen vacunas disponibles al público para neutralizar la infección que produce el virus. De acuerdo a la investigación de Karkhah A y colaboradores, expresan que hasta el año 2020 hubo al menos 9 candidatos para la vacuna en evaluación clínica y 25 candidatos en desarrollo ²⁹.

Control y prevención

Para el control y prevención del virus se fundamenta principalmente en evitar el aumento de la población de los vectores, para ello se puede controlar mediante medidas mecánicas (eliminación de cualquier objeto que pueda ayudar en el almacenamiento del agua) químicas (uso de productos químicos como repelentes de insectos) y biológicas (implica el uso de bacterias como *Bacillus thuringiensis israelensis*, que producen endotoxinas mortales para el zika) , evitar viajar a zonas endémicas y usar ropa que cubra las extremidades para que exista menos posibilidad de picadura del mosquito.^{1,21}. Todas las mujeres embarazadas en caso de sospecha de infección por el *Aedes*, deberán recibir atención médica ginecobstetricia y llevar el control durante todo el embarazo para evitar síndromes congénitos ^{3,4}.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

Tipo de investigación

El nivel: Descriptiva, ya que se describió el contexto con información de interés que fueron recolectadas de libros, revistas científicas, páginas web como la OMS, OPS y MSP, seleccionando información actualizada acerca del tema de investigación, realizados por especialistas que indagan el tema.

El diseño: Documental-no experimental, debido a que la investigación se basó en revisiones bibliográficas publicadas en diferentes bases de datos que permitió sustentar la importancia del tema de investigación y no existió la manipulación de las variables.

La secuencia temporal: Cohorte transversal, ya que la investigación se desarrolló en un periodo de tiempo único y se obtuvo un solo bloque de resultados.

La cronología de los hechos: Retrospectivo porque se trabajó con fuentes bibliográficas posterior a los hechos ya estudiados que contenían información relevante para el desarrollo del tema.

Población

La población de estudio quedó conformada por 115 fuentes bibliográficas en los que abarca información en base a la caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio de Zika, publicadas en fuentes primarias y secundarias indexadas en bases de datos de impacto mundial como; libros, Scielo, Scopus, ProQuest, Pubmed, Dialnet, Elsevier, Journal, Sciencedirect, Repositorios, Medigraphic, NCBI, también páginas web; OMS, OPS y MSP publicados durante el periodo comprendido entre el año 2011 y 2021.

Muestra

En el presente proyecto se escogió un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se seleccionaron 68 fuentes bibliográficas distribuidas de la siguiente manera: Libros (4) Repositorios (2) Scielo (4), Medigraphic (2) NCBI (3) Pubmed (17) Scopus (11) ProQuest (6), Journal (9), BVS (2), MSP (3), CDC (2), Sciencedirect (2), Dialnet (1).

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- Fechas de publicación comprendidos desde el 2011 hasta el 2021
- Artículos científicos con contenido de caracterización clínica
- Artículos y libros que indiquen fundamentos de los métodos de diagnóstico de laboratorio
- Insertos que ayuden en el procedimiento
- Artículos científicos con estudios clínicos de la infección.
- Repositorios acerca de la infección por zika.

Criterios de exclusión

- Fechas de publicación más de 10 años
- Artículos incompletos
- Artículos con datos que no contienen información concerniente al tema de estudio
- Artículos científicos con acceso pagado.

Métodos de estudio

Para el presente proyecto de investigación se utilizó el método teórico ya que se hizo un análisis y síntesis de la información recolectada de las diferentes bases de datos científicos sobre la caracterización clínica y diagnóstico de laboratorio del Zika.

Técnicas y Procedimientos

La técnica que se utilizó fue la observación directa ya que se encaminó en observar estudios científicos, leer comprensivamente, analizar los documentos que fueron elaborados y publicados en diferentes revistas que contenían información de las variables de estudio.

El procedimiento que se utilizó luego de la aprobación del tema fue la búsqueda bibliográfica en diferentes bases de datos como Scielo, Scopus, ProQuest, Pubmed, Dialnet, Science direct, Medigraphic, NCBI, repositorios, libros también páginas web; OMS, OPS y MSP de las cuales se seleccionaron diferentes fuentes bibliográficas relevantes de carácter científico aplicando los criterios de inclusión y exclusión así como

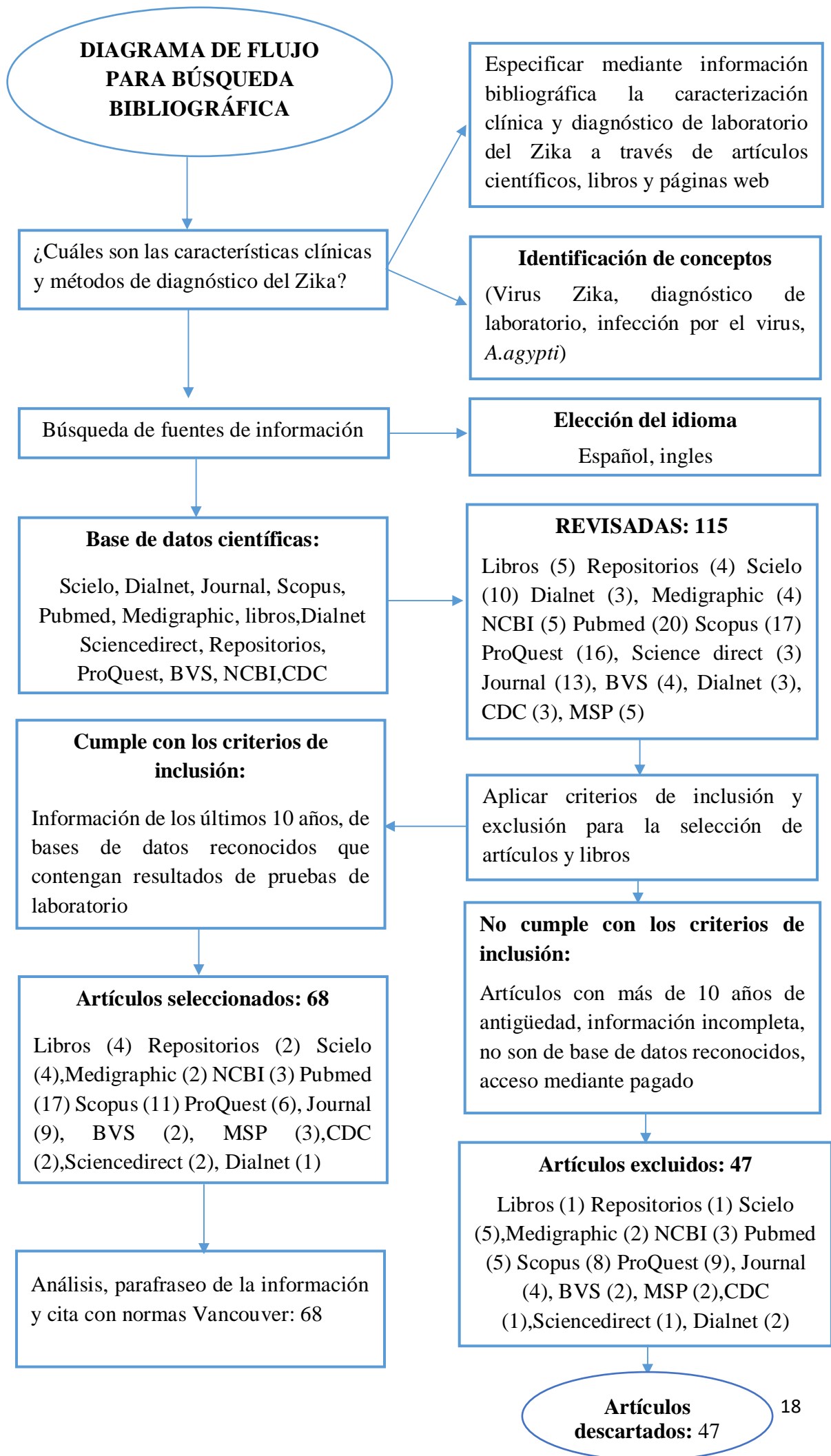
el año de publicación y que su contenido sea acorde al tema de estudio para su correspondiente análisis y síntesis de la información.

Procesamiento estadístico

La investigación tiene carácter cualitativo porque se recopiló información relevante para el desarrollo del tema, acumulando información de manera bibliográfica – descriptiva para ser analizada y argumentada.

Consideraciones éticas

El presente proyecto no tiene conflictos bioéticos porque no se manipuló muestras de origen biológico, razón por la cual no afectó ni puso en riesgo la integridad del ser humano ni del medio ambiente.



CAPÍTULO III. DESARROLLO

Los artículos científicos de mayor relevancia elegidos para esta investigación fueron 115 los mismo que fueron clasificados de acuerdo a los criterios de inclusión de las cuales 68 contenían información acorde con los objetivos planteados y una vez analizados los artículos se procedió a la realización de tablas de resultados con sus respectivas discusiones como se expone a continuación.

Signos y síntomas de Zika

En la tabla 1 presenta el listado de la investigación realizada correspondiente a caracterización clínica ante el virus del Zika, dando a conocer de forma sucinta los resultados obtenidos por diversos investigadores, población estudiada, signos y síntomas con sus respectivos porcentajes.

Se conoce que el 80% de los pacientes infectados son asintomáticos, solo el 20 % presenta síntomas pero son autolimitados, suelen durar entre 2 a 7 días. Como se puede observar en la tabla 1 la caracterización clínica con frecuencia expuesto en estas investigaciones fue el exantema maculopapular (84,4%), fiebre (61,3%), artralgia (54,3%), conjuntivitis (47,6%), prurito (43,7%), cefalea (43,3%), mialgia (23,3%), dolor retro-ocular (8,8%), astenia (7,2), edema (6,6%), sangrado (3,8%) y vómito (1,4%).

Discusión

Barrientos et al ³⁰, en su investigación titulada “Caracterización clínica –epidemiológica de los primeros casos de zika en El Salvador 2015-2016”, analizaron a 102 pacientes sospechosos de la infección que acudieron a dos hospitales de dicho país, indicaron que la principal característica clínica y que ayudó diferenciar de los demás flavivirus fue el exantema maculopapular. Coincidiendo con los estudios realizados por Burger et al ³¹, Guanache et al ³², Tejeda et al ³³, Helani et al ³⁴, Brasil et al ³⁶ y Petersen et al ³⁷, mencionan al exantema como la caracterización clínica con mayor frecuencia en los pacientes con la infección por el virus del Zika.

Tabla 1.Caracterización clínica del virus Zika

Autor	Población	Exantema	Fiebre	Prurito	Conjuntivitis	Artralgia	Mialgias	Cefalea	Edema	Dolor ocular	Vómitos	Astenia	Diarrea	Sangrado
Barrientos, <i>et al</i> ³⁰	102	94,3%	91,4%	82,9%	71,4%	80%	14,3%	34,3%	0%	11,4%	2,9%	0%	0%	0%
Burger, <i>et al</i> ³¹	556	80%	60%	70%	50%	60%	30%	60%	30%	20%	0%	10%	20%	10%
Guanche, <i>Et al</i> ³²	1141	93,8%	34,7%	77,9%	27,9%	60%	46,1%	50,8%	0%	0%	0%	31,7%	0%	0%
Tejeda, <i>et al</i> ³³	140	84,3%	70%	35%	32,1%	7,1%	0%	26,4%	4,3%	0%	0%	16,4%	0%	0%
Helani, <i>et al</i> ³⁴	55	89%	62%	0%	45%	63%	48%	46%	0%	0%	0%	0%	13%	0%
Carpio, <i>et al</i> ³⁵	103	84%	68%	84%	100%	100%	0%	845	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Brasil, <i>et al</i> ³⁶	262	60%	40%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	21%
Petersen, <i>et al</i> ³⁷	108	90%	65%	0%	55%	65%	48%	45%	19%	39%	10%	0%	0%	0%
Total	2467	84,4%	61,3%	43,7%	47,6%	54,3%	23,3%	43,3%	6,6%	8,8%	1,4%	7,2%	4,1%	3,8%

Elaborador por: Gualán Martha

Por su parte Carpio et al ³⁵, en su estudio realizado a 103 mujeres embarazadas sospechosas de la infección que acudieron al hospital general de Veracruz, México en 2016, contradice los resultados a los anteriores autores ya que indican que la caracterización clínica con mayor frecuencia que presentaron todas las pacientes fueron conjuntivitis y artralgia (100%), seguido de erupción cutánea, prurito, dolor de cabeza (84%) y fiebre (68%).

De acuerdo a la investigación ejecutada por Zambrano et al ³⁸ en Ecuador, muestran que una mujer de 43 años que acudió al Hospital Luis Vernaza de Guayaquil que vivía en Estados Unidos y que había viajado a Ecuador dos semanas antes de la aparición de los síntomas. La paciente se presentó al hospital con 3 días de fiebre, dolor de cabeza, mialgia, conjuntivitis, no mostró erupciones cutáneas ni artralgia. Refutando a la investigación realizada por Barrientos et al ³⁰, Burger et al ³¹, Guanche et al ³², Tejeda et al ³³, Helani et al ³⁴, Brazil et al ³⁶, Petersen et al ³⁷ y Carpio et al ³⁵, ya que la paciente no presentó erupciones cutáneas ni artralgia en comparación con las demás investigaciones que mencionaron a estos dos síntomas como las principales manifestaciones clínicas ante la infección por Zika ³⁵.

En la investigación de Helani et al ³⁴, analizaron 55 estudios de resultados clínicos de adultos infectados a nivel de América, obteniendo como resultado que los síntomas más comunes fueron: exantema (89%), artralgia (63%), fiebre (62%), conjuntivitis (45%), mialgia (48%), dolor de cabeza (46%) y diarrea (13%). Otro estudio llevado en América Latina por Crespillo C et al ³⁹, analizaron a 817 pacientes que habían viajado a países endémicos, el 56% fueron mujeres con una mediana de edad de 36 años, pero solo 25 (4%) fueron finalmente diagnosticados con infección por zika, de las cuales presentaron los siguientes síntomas, (92%) sarpullido, (88%) fiebre, (56%) artralgia y / o mialgia y (28%) conjuntivitis.

Por su parte Guanche H et al ³², indican que, al estudiar a una población de 1541 pacientes sospechosos de la infección, llevado a cabo en Habana (Cuba) en el año 2017, obtuvo como resultado que los signos y síntomas más frecuentes que manifestaron los pacientes confirmados fueron, exantema (93,8%), prurito (77,9%), artralgia (60%), cefalea (50,8%), mialgia (46,1%), fiebre (34,7%) y conjuntivitis (27,9%).

Helani et al ³⁴, indican que los síntomas y síntomas menos frecuentes de la infección a nivel de América fueron diarrea, náuseas, vómitos, dolor ocular y anorexia. Por su parte Petersen y colaboradores³⁷, expresaron que los pacientes analizados durante el brote de Micronesia aparte de las manifestaciones clínicas comunes, además presentaron hemospemia, audición sorda, hinchazón de manos, tobillos y sangrado subcutáneo. En el trabajo de Brasil y colaboradores ³⁶, llevado a cabo en Rio de Janeiro, exponen en sus resultados que además de la caracterización común también algunos pacientes tenían síntomas hemorrágicos leves como petequias y hemorragia leve de las mucosas.

En la investigación de Campos et al ⁴⁰, estudiaron a 24 pacientes de Brasil a quienes le dieron un diagnóstico presuntivo de la enfermedad, obteniendo en sus resultados que el exantema maculopapular, mialgias, fiebre, cefalea y la artralgia fueron las manifestaciones clínicas con menor frecuencia. Concordando con los resultados de Tejeda et al ³³, ya que en su estudio la artralgia se reportó como menos frecuente.

Brasil et al ³⁶, en su estudio analizaron a 262 pacientes con zika, el 68,5 % mujeres, la manifestación clínica con más periodicidad notificados en los primeros cuatro días fueron erupción cutánea que tuvo un rango de duración de 3 a 7 días, la artralgia un rango de duración de 2 a 21 días, el 64 % no tenían fiebre, el 36% presentó antecedentes de fiebre que no duraban más de un día. Por su parte Burger et al ³¹, en su trabajo ejecutado en Nicaragua, estudiaron a 556 casos confirmados, presentaron únicamente erupción cutánea durante la primera semana de la infección, fiebre y dolor de cabeza que duraron 3 días después del inicio del cuadro clínico.

Mittal y colaboradores ⁴¹, expresan en su trabajo descriptivo que el cuadro clínico se observa en el 50% de las personas después de 5 días y en el 95% después de 11 días de la exposición al virus. También mencionan que las erupciones maculopapulares se dan en 90% de los casos y tiene una duración de 4 a 5 días, precedidos por fatiga, mialgia, dolor de cabeza y fiebre baja, en algunas ocasiones se observa edema periférico de las articulaciones que comúnmente desaparecen en una semana. En 50% de los casos se da la infección conjuntival sin pus que ocurre en la etapa temprana de la enfermedad ⁴¹.

Complicaciones asociadas al virus durante el embarazo

En la tabla 2 se muestra las complicaciones que puede inducir el virus en las mujeres embarazadas en base a las investigaciones realizadas por diferentes autores y en distintos partes del mundo. Se puede observar que la infección durante el estado de gestación puede generar una amplia gama de complicaciones tanto a la gestante como al feto, pero esto va depender de la carga viral, grado de virulencia y el sistema inmunológico de la madre, ya que el virus del Zika puede traspasar la placenta presentando mayor riesgo durante el primer y segundo trimestre del embarazo, las complicaciones más significativas que puede desarrollar en el feto son la microcefalia seguida de síndrome de Guillain-Barré, alteraciones del sistema nervioso central, retraso del crecimiento, anomalías oculares, anomalías cerebrales, meningitis, encefalitis, abortos, incluso puede causar la muerte del feto si no es diagnosticado a tiempo.

Tabla 2. Complicaciones asociados a la infección por Zika durante el embarazo

Autor	País	Muestra	Complicaciones asociadas a la infección
Delman D <i>et al</i> ⁴²	Estados Unidos	Analizaron a 9 mujeres en estado de gestación confirmadas con la infección	Dos abortos prematuros, dos interrupciones electivas del embarazo y un bebé con microcefalia
Chibuese E <i>et al</i> ⁴³	A nivel mundial	Indagaron 18 artículos de diferentes bases de datos científicos	Un caso de síndrome de Guillain-Barré, anomalías neurológicas y oculares fetales, restricción del crecimiento fetal, muerte intrauterina y muerte perinatal. La microcefalia se informó en 8 estudios
Honein M <i>et al</i> ⁴⁴	Estados Unidos	Se analizaron a 442 en estado de gestación infectadas con el virus	De los 26 fetos o bebés afectados, 14 tenían microcefalia y anomalías cerebrales y 4 tenían anomalías cerebrales sin microcefalia como calcificaciones intracraneales,

			anomalías del cuerpo calloso, atrofia cerebral, ventriculomegalia e hidrocefalia
Acevedo N <i>et al</i> ⁴⁵	Ecuador	Se estudiaron a 16 mujeres embarazadas con zika	Seis pacientes fueron diagnosticados con meningitis o encefalitis, 3 con síndrome de Guillain-Barré y 1 con vasculitis del sistema nervioso central. Las 2 pacientes diagnosticados con encefalitis y meningoencefalitis murieron durante la hospitalización.
Magalhães M <i>et al</i> ⁴⁶	Brasil	Se analizaron los datos de vigilancia publicados por el Ministerio de Salud de Brasil	Se encontró que 255 de los 1656 casos confirmados con microcefalia estaban asociados con la infección por el virus del Zika.
Castro M, <i>et al</i> ⁴⁷	España	Mujeres embarazadas viajeras	Una mujer embarazada sufrió un aborto espontáneo, en el 7% de los bebés se detectaron quistes cerebrales y microcalcificaciones, 33,3% retraso en el progreso neurológico de la función del lenguaje de los niños.
Benavides A, <i>et al</i> ⁴⁸	Costa Rica	Se estudiaron 11 casos de mujeres en estado de gestación	Del total de casos el 91% tenía microcefalia aguda, 64% microcefalia grave, 82% anomalías cerebrales, 41 % anomalías oculares y 9% de pérdida auditiva.
Halani S, <i>et al</i> ⁴⁹	A nivel de América	Se analizaron 55 estudios a nivel de América	De los casos confirmados el 75% desarrollaron el Síndrome de Guillain-Barré.

Elaborado por: Gualán Martha

Discusión

El riesgo de transmisión de madre-hijo existe durante todo el embarazo tanto si es sintomática o asintomática, sin embargo, presenta mayor riesgo durante los dos primeros trimestres del embarazo. Según estimaciones en diferentes estudios el riesgo de presentar cualquier defecto durante el embarazo va desde un 6% a 42% ⁴⁹. Coincidiendo con la investigación de Antoniou et al ⁵⁰, ya que concluyen que el riesgo es mayor en el primer y segundo trimestre del embarazo. Por su parte Koppolu et al ¹², menciona que tienden a desarrollar complicaciones neurológicas durante el primer trimestre y es insignificante durante el segundo y tercer trimestre del embarazo.

Hoen y colaboradores ⁵¹, analizaron a 546 mujeres embarazadas infectadas con el virus, de las cuales, 28 fetos no llegaron a término o nacieron muertos, 39 fetos y lactantes se observaron defectos neurológicos y oculares. Además, concluyeron que el riesgo de microcefalia es mayor en el primer que en el segundo trimestre, asimismo indican que también puede ocurrir la infección en el tercer trimestre, pero con un menor riesgo.

Acevedo et al ⁴⁵, en su trabajo investigativo realizado a 16 mujeres embarazadas ingresados al Hospital Luis Vernaza de Guayaquil, Ecuador, obtuvieron como resultado que 6 pacientes fueron diagnosticados con meningitis o encefalitis, 3 con síndrome de Guillain-Barré y 1 con vasculitis del sistema nervioso central, las 2 pacientes diagnosticados con encefalitis y meningoencefalitis murieron durante la hospitalización. Halani S at al ³⁴, analizaron 55 estudios efectuado en las Américas, indicando que de los casos confirmados, el 75% desarrollaron SGB, algunos se recuperaron del pico de complicaciones neurológicas, aunque unos sufrieron una discapacidad crónica, la mortalidad fue de 0,1% y la hospitalización 11%.

Según los informes del Ministerio de Salud Pública del Ecuador desde el año 2016 hasta el año 2018 se han reportado 17 niños con transmisión vertical del virus sin malformación congénita. En cuanto a síndromes congénitos se han registrado 20 casos de microcefalia vinculado al zika y 1 caso de malformación congénita sin microcefalia. Con respecto a síndromes neurológicos en el año 2017 se confirmaron 4 casos; un caso de encefalitis en la provincia de El Oro y 2 casos de Síndrome de Guillain Barré en la Provincias de Santa Elena y 1 caso en Nueva Loja Sucumbíos ⁹. Por su parte Zambrano H et al ³⁸, en sus

resultados de investigación efectuado en Ecuador a 59 mujeres embarazadas, indicaron 2 casos de microcefalia vinculados al zika.

En el estudio de Magalhães et al ⁴⁶, llevado a cabo en Brasil entre 2015 y julio de 2016 los resultados revelaron que 255 (15,4%) de los 1656 casos confirmados con microcefalia estaban asociados con la infección por el virus del Zika. Por su parte Koppolu et al ¹², mencionan que casi un tercio de las mujeres embarazadas contagiadas tienden a desarrollar complicaciones neurológicas como la microcefalia en un porcentaje de 1 al 13%. Chibueze et al ⁴³, en su análisis de 18 artículos científicos sobre complicaciones, concluye que la microcefalia fue la principal complicación neurológica informado en ocho estudios, con una incidencia de aproximadamente el 1% entre los recién nacidos de mujeres infectadas.

En el trabajo de Benavides et al ⁴⁸, efectuado en Costa Rica, expresa que la prevalencia de defectos congénitos fue de 15,3 casos / 100 000 nacidos vivos. En su estudio analizaron a 11 mujeres en estado de gestación de las cuales el 91% tenía microcefalia aguda, 64% microcefalia grave, seguido de otras complicaciones como anomalías cerebrales 82%, anomalías oculares 41% y pérdida auditiva 9%. Petersen et al ³⁷, menciona en su estudio que la prevalencia de microcefalia en los Estados Unidos promedia aproximadamente 6 casos por 10 000 recién nacidos, con un rango de aproximadamente 2 a 12 casos por 10 000 bebés nacidos vivos asociadas a la infección.

Honein et al ⁴⁴, en su estudio “Defectos congénitos en fetos y bebés de mujeres estadounidenses con evidencia de posible infección por el virus del Zika durante el embarazo” muestran en sus resultados que de los 26 fetos o bebés afectados en el transcurso del embarazo, 14 tenían microcefalia y anomalías cerebrales, 4 tenían anomalías cerebrales sin microcefalia como calcificaciones intracraneales, anomalías del cuerpo calloso, formación cortical anormal, atrofia cerebral, ventriculomegalia e hidrocefalia. Concordando con el estudio Mlakar et al ⁵² “Zika Virus Associated with Microcephaly” (virus Zika asociado con microcefalia), informan el caso de una mujer embarazada que se infectó durante el primer trimestre, en la ecografía realizada a las 29 semanas, el feto presentó microcefalia con calcificaciones en el cerebro y placenta, posterior a la interrupción del embarazo y tras una autopsia fetal observaron microcefalia e hidrocefalia del feto.

Por su parte Castro et al⁴⁷, en su trabajo observacional efectuado en Barcelona, España a mujeres gestantes que habían viajado a países endémicos, en su informe indican que entre los casos confirmados, el 33,3% tuvo retraso en el desarrollo neurológico de la función del lenguaje de los niños, el 7% de los bebés infectados se detectaron quistes cerebrales y microcalcificaciones y una mujer embarazada sufrió un aborto espontáneo, esta última coincide con el resultado de Delman et al⁴², en la que estudiaron a 9 mujeres embarazadas de las cuales dos mujeres sufrieron abortos y dos interrupciones electivas. En la investigación de Chibuese se mencionó muerte perinatal y muerte intrauterina del feto. Hoen algunos fetos no llegaron a término o nacieron muertos.

Por último, en el trabajo de Rice y colaboradores⁵³, estudiaron 943 casos de mujeres en estado gestación con la infección por el virus del Zika; en sus resultados indican que, 144 (15%) recién nacidos de madres infectadas tenían un defecto congénito asociado al virus, 62 (7%) tenían al menos una enfermedad asociada a la enfermedad, 99 (10%) poseían al menos una anomalía del desarrollo neurológico probablemente vinculado con la infección congénita por el virus y 17 (2%) tenían ambas.

Diagnóstico de laboratorio

En la tabla 3 se presenta un cuadro comparativo de la sensibilidad y especificidad de algunos métodos de diagnóstico convencionales para la detección del virus Zika en los laboratorios, ya que el diagnóstico de la enfermedad no solo depende de la evaluación clínica sino también del diagnóstico de laboratorio, por lo que es fundamental tomar en cuenta la sensibilidad y la especificidad de las pruebas empleadas para un diagnóstico confiable y de esta manera el médico pueda dar un tratamiento oportuno al paciente.

Cabe recalcar que la sensibilidad se refiere a la probabilidad de que la prueba sea positiva cuando el virus está presente, mientras que especificidad es la probabilidad de que la prueba sea negativa cuando el virus no está presente.

Según los datos obtenidos en la tabla, se puede observar que las pruebas MAC ELISA, NS1, IgM/IgG e inmunocromatográficas muestran menor sensibilidad y especificidad, que las pruebas moleculares, suelen tener reacciones cruzadas con otras enfermedades como el dengue y el *chikungunya* la ventaja de estas pruebas es que son más baratas y fáciles de realizar. En cambio, las pruebas moleculares como la PCR en tiempo real tiene

alta sensibilidad y especificidad, sin embargo, son métodos costosos y requieren de equipos especiales. Otra prueba que tiene mayor sensibilidad que la PCR es la prueba LAMP, además son más económicas.

Tabla 3.Sensibilidad y especificidad de las pruebas de laboratorio para el diagnóstico del virus Zika

Pruebas	Sensibilidad	Especificidad
Inmunocromatográficas IgM/ Ig G Low S <i>et al</i> ⁵⁴	60,3%	81,7%
MAC-ELISA Balmaseda A <i>et al</i> ⁵⁵	94,5 %	85,6%
ELISA NS1 Lustig Y, <i>et al</i> ⁵⁶	83,3%	97,5%
PCR en tiempo real Singh <i>et al</i> ⁵⁷	91 %	97%
RT-LAMP Escalante O <i>et al</i> ⁵⁸	99,3%	100%

Elaborado por: Gualán Martha

Discusión

En su estudio Low et al ⁵⁴ expresa que los ensayos de serología de IgM e IgG de Zika arrojaron sensibilidades del 23,5% al 97,1% entre las muestras convalecientes en comparación con el 5,6% al 27,8% entre las muestras agudas; las especificidades fueron 63,3% y 100% entre muestras agudas y convalecientes. Balmaseda et al ⁵⁵, en los resultados manifiesta que el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas de captura de anticuerpos IgM (MAC-ELISA) arrojaron sensibilidades del 94,5% y especificidades de 85,6%. En el estudio llevado a cabo por Granger y Theel ⁵⁹, mostraron un mayor porcentaje de especificidad (95%). Por otra parte, Mendoza et al ⁶⁰, combinó MAC ELISA con ELISA IgM/IgG Euroimmun-G obteniendo mayor sensibilidad del 99,1% y especificidad del 97,2% para la detección del virus. Sin embargo, en el estudio realizado por L'Huillier et al ⁶¹, al realizar la misma combinación mostró una buena especificidad (92,5%) pero una baja sensibilidad (39,5%).

Por otra parte, Matheus y colaboradores ⁶², evaluaron las pruebas serológicas ELISA Euroimmun y ELISA Dia.Pro para la detección de IgM e IgG del virus del Zika utilizando un panel de 199 muestras de una región endémica de flavivirus, tomadas durante un período de 10 meses después de la infección. Obtuvo como resultado que la sensibilidad para la IgM del virus fue baja, especialmente en el ensayo Euroimmun (49%), mientras que la IgM se pudo detectar durante meses con el ensayo Dia.pro. La especificidad de las pruebas de IgG del virus del Zika también fue baja especialmente la de Dia.Pro (62%). Low y colaboradores ⁵⁴, en su investigación utilizó el ELISA Diapro ZIKV IgM y demostrando alta sensibilidad (96%) y una especificidad de (80%) cuando se probó en muestras de convalecencia temprana.

Lustig et al ⁵⁶ analizaron muestras obtenidas durante el pico de infección de 1188 viajeros Israelíes sintomáticos y asintomáticos, utilizando ELISA IgG e IgM basado en proteína no estructural (NS1), mostraron una sensibilidad del 83,3 % y una especificidad del 97,5%, por otro lado Balmaseda et al ⁵⁵, utilizaron la prueba ELISA de bloqueo (sándwich) de unión a NS1 que midió los niveles de anticuerpos anti-ZIKV NS1, las cuales arrojaron sensibilidades entre 85% y 96,5% y especificidades entre 91,4% y 92,6% en la etapa convalecencia temprana y tardía de la infección.

En su estudio Morales et al ⁶³, al analizar las muestras de seguimiento confirmadas mediante la utilización de ELISA comerciales para la detección de anticuerpos IgM, IgA y IgG, obtuvo como resultado que la sensibilidad de IgAM anti-ZIKV fue del 93,5%, mientras que IgM e IgG mostraron sensibilidades del 30,3% y el 72%. La especificidad de IgM anti-ZIKV se estimó en 93% y la de IgAM en 85%. En el trabajo investigativo llevado a cabo por Bozza y colaboradores ⁶⁴, mencionan que el uso de IgA basada en NS1 como marcador de infección aguda aumentó la tasa de detección al 53% sobre la de ELISA de IgM basado en NS1. Todos los pacientes IgM positivos también mostraron IgA, que incrementó durante la fase aguda y subaguda de la infección y disminuyó durante la convalecencia. Este descubrimiento respalda la utilidad de los métodos serológicos basados en IgA como marcador alternativo o adicional a los métodos basados en IgM para detectar la infección aguda causada por el virus ⁶⁴.

Portilho et al ⁶⁵, en su estudio, señalan que los resultados obtenidos de muestras tomadas durante la fase aguda de la enfermedad, la PCR en tiempo real presentó una sensibilidad

del 12,5% para las muestras recolectadas entre 0 a 4 días después del inicio de los síntomas y del 75% para las muestras tomadas entre 5 a 9 días después del cuadro clínico. Durante el período de convalecencia de la enfermedad, la sensibilidad de la prueba fue del 90,9% y una especificidad de 100% para las muestras obtenidas 12 a 102 días posterior al inicio de la sintomatología. Singh *et al*⁵⁷, descubrieron que para diagnosticar la infección en etapa temprana se puede usar el kit de prueba RealStar Zika RT-PCR, comercializado por Altona Diagnostics ya que tiene una sensibilidad del 91% y una especificidad del 97%.

Según Pereira *et al*⁶⁶, indica que hasta el momento la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa es ampliamente utilizada para el diagnóstico de la infección por el virus Zika por mostrar una alta sensibilidad y especificidad en suero y orina. En el estudio realizado por Hussien *et al*⁶⁷, manifiestan que la sensibilidad de dicha prueba oscila entre el 73% y el 100% y una especificidad entre el 99% y el 100%. En la PCR convencional la sensibilidad oscila entre el 77,8% y el 100% y una especificidad entre el 89% y el 100%.

Otros métodos moleculares también utilizados para el diagnóstico son el método de amplificación isotérmica mediada por bucle con transcripción inversa y la reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa con transcripción inversa muestran una especificidad del 100%, Escalante *et al*⁵⁸, en su estudio comparativo, manifestó en sus resultados que ambos métodos coincidieron perfectamente, excepto para una muestra que se reportó como positiva para Zika por el método estándar RT-PCR y negativa por la prueba RT-LAMP.

Silva y colaboradores²⁴, señala que LAMP es una prueba alternativa para diagnosticar los arbovirus. Este método de diagnóstico es de bajo costo, tiene una alta especificidad, sensibilidad y eficiencia. Escalante *et al*⁵⁵, utilizó la prueba RT-LAMP consiguiendo altos niveles de sensibilidad (99,3%) y especificidad (100%). En el trabajo llevado a cabo por Teoh *et al*⁶⁸, utilizando la misma prueba, arrojaron sensibilidad de 90% y especificidad de 100%. En los resultados obtenidos por Silva *et al*²⁴, tuvo una menor sensibilidad (80%) pero igualmente una alta especificidad (100%) concordando con los resultados de las demás investigaciones.

CONCLUSIONES

- El virus del Zika causa una enfermedad infecciosa, benigna y autolimitada, solo el 20% de los pacientes presentan sintomatología que dura entre 2 a 7 días, las manifestaciones clínicas más frecuentes ante una infección por el virus predomina el exantema maculopapular, seguido de fiebre, artralgia, conjuntivitis, prurito, cefalea, mialgias, dolor ocular, los menos comunes son la astenia, edema, diarrea, sangrado y vómitos, siendo las primeras manifestaciones son los que ayudan a diferenciar de los demás flavivirus.
- Las personas más susceptibles a complicaciones por el virus del Zika son las mujeres en estado gestación, el riesgo va desde 6% a un 42%, presentando mayor riesgo durante el primer trimestre, puede desencadenar complicaciones congénitas neurológicas y autoinmunes, predominando la microcefalia, seguido de síndrome de Guillain-Barré, problemas oculares, auditivos, anomalías cerebrales, encefalitis, meningitis, abortos y muerte intrauterina por lo que es muy importante un cuidado especial en toda la etapa del embarazo para prevenir las complicaciones.
- Las principales pruebas aplicadas para el diagnóstico son las pruebas serológicas basado en ensayos por inmunoadsorción ligado a enzimas, MAC ELISA, NS1/ IgM, IgG y las pruebas inmunocromatográficas, pero existe el inconveniente de la reacción cruzada con otros flavivirus, además tienen una menor sensibilidad y especificidad que las pruebas moleculares. Las pruebas moleculares como la reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (RT-PCR), tienen mayor sensibilidad y especificidad que las pruebas serológicas, pero este método es costoso y requiere equipos de laboratorio, otra prueba molecular alternativa es la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), ya que tiene muchas ventajas como rapidez, bajo costo, incluso mostró mayor sensibilidad y especificidad que la PCR en tiempo real.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sánchez J, Ramos C, Jácome B, García R, Flores J, Santoscoy. F. Virus Zika en México. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab [Internet] 2016 [consultado 13 Jul 2021]; 63 (1): 4-12. Disponible en <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2016/pt161a.pdf>
2. Moreno D, Zavala M, Santamaría M, Santibáñez R. Manifestaciones Neurológicas Asociadas a Infección por Virus Zika. Rev Rev. Ecuat. Neurol [Internet] 2016 [consultado 19 Jul 2021]; 25(3). Disponible en <https://uisrael.edu.ec/wp-content/uploads/2018/01/ArticuloDavidRamosYRevista2016.pdf#page=56>
3. Javed F, Manzoor K, Ali M, Haq I, Khan A, Zaib A, et al. Zika virus: what we need to know? Rev Journal of basic micrology [Internet].2018 [consultado 02 Agost 2021]; 58 (1):3-16. Disponible en <https://doi.org/10.1002/jobm.201700398>
4. Núñez E, Vásquez M, Beltrán B, Padgett. Virus Zika en Centroamérica y sus complicaciones. Rev Acta Med Peru [Internet] 2016. [consultado 13 Jul 2021]; 33(1):42-9. Disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v33n1/a08v33n1.pdf>
5. Cabrera Y, Vega J, Miranda J, Martínez S, García D, Martínez J. Infección por virus Zika como un reto para la Salud Pública. Rev.Med. Electrón. [Internet]. 2017 Abr [consultado 2021 Jul 13]; 39(2): 304-312. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242017000200015&lng=es
6. Organización Panamericana de la Salud. Actualización Epidemiológica Arbovirosis en el contexto de COVID-19 2 de julio de 2021.Paho.org [Internet] 2021 [consultado 13 Jul 2021]; Disponible en <https://www.paho.org/es/file/90898/download?token=aDoIdhoj>
7. Subsecretaria de vigilancia de la salud pública. Dirección nacional de vigilancia epidemiológica enfermedades transmitidas por vectores. [Internet]. salud.gob.ec; 2018 [actualizado 11 Abr 2018; consultado 13 Jul 2021]. Disponible en <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2015/12/GACETA-ZIKA-SEM26.pdf>
8. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Informe Epidemiológico-Zika Ecuador. Septiembre de 2017. Washington, D.C.OPS / OMS;

- 2017.Disponible en <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/2017-phe-zika-situation-report-ecu.pdf>
9. Subsecretaria de vigilancia de la salud pública. Dirección nacional de vigilancia epidemiológica enfermedades transmitidas por vectores. ZIKA Semana epidemiológica 14-2018, Ecuador [Internet].[consultado] 2018.Disponible en <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2015/12/GACETA-ZIKA-SE14-2018.pdf>
 10. Baque D, Calderón A. Caiza C. Escobar M. Prevalencia de Zika y *Chikungunya* en los cantones de Jipijapa y Puerto López de la Provincia de Manabí, Ecuador. 2015-2020.Rev Pol. Con [Internet].2020 [consultado 14 Julio 2021]; 5(6): 968-981.Disponible en <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:ReRbier4boEJ:https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/download/2388/4876+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec>.
 11. Martin C, Hollins C, Preedy V, Rajendram R. Impacto, Diagnóstico, control y modelos del virus del Zika.5th. ed. EE. UU: Elsevier inc; 2021 [consultado 19 Jul 2021]. Disponible en https://books.google.com.ec/books?id=IDYXEAAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Zika&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Zika&f=false
 12. Koppolu, V., Shantha Raju, T. Zika virus outbreak: a review of neurological complications, diagnosis, and treatment options.J. Neurovirol. [Internet] 2018[consultado 25 Jul 2021]; 24: 255–272.Disponible en <https://doi.org/10.1007/s13365-018-0614-8>
 13. Webb A. El manual de prevención del Zika [Internet]. New York: Skyhorse; 2016 [consultado 19 Jul 2021]. Disponible en https://books.google.com.ec/books?id=OmaCDwAAQBAJ&pg=PT10&dq=Zika&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=2#v=onepage&q=Zika&f=false
 14. Consuegra R, Torres N, Martínez M. Enfermedad por virus Zika. Revisión: ¿Que debemos saber?, ¿Cómo debemos actuar?, ¿Por qué es una alerta sanitaria? Rev Biociencias [Internet]. 2017 [consultado 19 Jul 2021]; 12(2). Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6769296>
 15. Medrano J.Varillas B. Evaluación de la infectividad del virus Zika en las líneas celulares C6/36 HT y BHK-21.[Repositorio de universidad privada Norbert Wiener];2018.Disponible en

<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/3120/TESIS%20Medrano%20Johanna%20%20Varrillas%20Benjam%20c3%adn.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

16. Centers for Disease Control and Prevention. Ciclo de vida del mosquito. cdc.gov [Internet]. 2020 [consultado 28 Jul 2021]. Disponible en <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/spanish/MosquitoLifecycle-sp.pdf>
17. Hak Song B, Im Yun S, Woolley M, Min Lee Y. Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation. *Rev Journal of Neuroimmunology* [Internet]. 2017 [consultado 10 Sep 2021]; 308 (2017): 50–64. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.03.001>
18. Zacarías P, Murrieta J, Gutiérrez-A, Andre U. Markert, Morales M. Pregnancy and pandemics: Interaction of viral surface proteins and placenta cells. *Rev Molecular Basis of Disease* [Internet] 2021 [consultado 27 sep 2021] 1867 (11). Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925443921001514?via%3Dihub>
19. Menéndez M. Andujar C. Riesgo de propagación de la infección por el virus del Zika en Europa [Internet]. Madrid: Springer .2017. Disponible en https://books.google.com.ec/books?id=RYoIdwAAQBAJ&pg=PA39&dq=Zika&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiNv_jiruXxAhX_RDABHYdsCM44ChDoATAIegQIBBAC#v=onepage&q=Zika&f=false
20. Acosta Y, Monsalve D, Castillo L, Rodríguez Y, Pacheco Y, Halstead S, et al. Autoimmune Neurological Conditions Associated With Zika Virus Infection. *Frontiers in Molecular Neuroscience* [Internet] 2018 [consultado 14 Sep 2021]; 11(1):1-11. Disponible en <https://www.proquest.com/docview/2309465215/fulltextPDF/771074D979EF4B25PQ/18?accountid=36757>
21. Hilgenfeld R, Vasudevan S. Dengue y Zika: estrategias de control y tratamiento antivírico [Internet]. 2th. ed EE.UU: Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2018. Disponible en https://books.google.com.ec/books?id=8dddDwAAQBAJ&pg=PA22&dq=Zika&hl=es419&sa=X&ved=2ahUKEwiNv_jiruXxAhX_RDABHYdsCM44ChDoATAFegQICRAC#v=onepage&q=Zika&f=false

22. Cabezas C, García P. Diagnóstico de la infección por el virus Zika. *An. Fac. med.* [Internet]. 2017 [Consultado 13 Sep 2021]; 78(1): 89-93. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832017000100015
23. Organización Panamericana de la salud y Organización mundial de la salud. Vigilancia de virus Zika (ZIKV) en las Américas: Recomendaciones para la detección y diagnóstico por laboratorio. paho.org [Internet] 2015 [Consultado 2 sep 2021]. Disponible en <https://www.paho.org/es/documentos/vigilancia-virus-zika-zikv-americas-recomendaciones-para-deteccion-diagnostico-por>
24. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). MAC-ELISA para el zika. cdc.gov [Internet] 2016 [Actualizado 26 Agosto 2021, Consultado 13 Sep 2021]. Disponible en <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/spanish/non-eua-zika-mac-elisa-protocol-sp.pdf>
25. Singh R, Dhama K, Yashpal SM, Ramakrishnan MA, Karthik K, Tiwari R, et al. Zika virus – emergence, evolution, pathology, diagnosis, and control: current global scenario and future perspectives – a comprehensive review. *Rev Vet Q* [Internet] 2016 [consultado 01 Sep 2021]; 36(3):150-175. Disponible en <https://www.proquest.com/docview/2390113535?accountid=36757>
26. Silva S, Pardee K, Pena L. Amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) para el diagnóstico del virus del Zika: una revisión. *Virus Rev. MDPI*. 2019; [consultado 13 Sep 2021]; 12 (1): 19. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7019470/pdf/viruses-12-00019.pdf>
27. Chua A, Prat I, Nuebling CM, Wood D, Moussy . Update on Zika Diagnostic Tests and WHO's Related Activities. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2017 [consultado 13 Sep 2021]; 11 (2): 1-8. Disponible en https://pdfs.semanticscholar.org/a052/94baaec0932daaacb1fe7c3cf0b12da30476.pdf?_ga=2.103636610.345888627.1631059495-1969380522.1631059495
28. Louise M, Kirsten G. Laboratory Diagnosis of Zika Virus Infection. *Rev Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2016 [Consultado 22 Jul 2021]; 141 (1): 60–67. Disponible en <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0406-SA>
29. Karkhah A, Nouri HR, Javanian M, Koppolu V, Masrour-Roudsari J, Kazemi S, et al. Zika virus: epidemiology, clinical aspects, diagnosis, and control of infection. *Europ Jour of Clinic Microbio and Infec Disea.* [Internet] 2018 [consultado 10 sep 2021]; 37(11):2035-2043. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3354-z>

30. Barrientos A, Hernández C, Mendoza E. Caracterización clínica epidemiológica de los primeros casos zika en El Salvador, 2015-2016. *Rev. Alerta* [Internet]. 2018 [consultado 15 de septiembre de 2021];1(2):54-61. Disponible en: <https://www.lamjol.info/index.php/alerta/article/view/7461>
31. Burger R, Carrillo B, Bustos F, Gresh L, Ojeda S, Sanchez N, *et al.* Age-dependent manifestations and case definitions of paediatric Zika: a prospective cohort study. *Rev The Lancet Infectious Diseases* [Internet].2020 [Consultado 15 Sep 2021]; 20(3): 371-380.Disponible en doi:10.1016/S1473-3099(19)30547-X
32. Guanche H, Gutierrez F, Ramirez M,Ruiz A, Perez C, Gonzalez A, *et al.* Clinical relevance of Zika symptoms in the context of a Zika Dengue epidemic. *Rev. Infección y Salud Publica* [Internet].2020 [consultado 15 Sep 2021]:13 (2): 173-176.Disponible en doi:10.1016/j.jiph.2019.07.006
33. Tejeda O; Amaro R, Sosa R. Caracterización clínica epidemiológica de pacientes pediátricos con zika en epidemia / Clinical-epidemiological characterization of pediatric patients with zika in epidemic. *Rev. cuba. Pediatr* [Internet] 2020 [consultado 15 Sep 2021]; 92(3). Disponible en <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/biblio-1126768>
34. Halani S, Tombindo P, Ryan O, Miranda R, Erdman L, Whitehead C, *et al.* Clinical manifestations and health outcomes associated with Zika virus infections in adults: A systematic review. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [Internet] 2021 [Consultado 15 Sep 2021];15(7). Disponible en <https://www.proquest.com/docview/2561939412/7F27B6D01ABF47D5PQ/5?accountid=36757>
35. Carpio L, Lozano A, Garcia S. Zika virus infection in pregnant women in a General Hospital of Veracruz, Mexico. *Rev. Medicina Materno-Fetal y Neonatal* [Internet].2020 [Consultado 15 sep 2021]; 33(21): 3627-3631.Disponible en doi:10.1080/14767058.2019.1582627
36. Brasil P, Amaral G, Machado A, Wakimoto M, Carvalho P, Nobre, A *et al.* Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. *PLOS Neglected Tropical Diseases* [internet] 2016 [consultado 16 Sep 2021];10(4): 1-13. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004636>

37. Petersen L, Jamieson D, Powers A, Honein M. Zika Virus. *N Engl J Med* [Internet] 2016 [Consultado 17 Sep 2021]; 374(16):1552-63. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27028561/>
38. Zambrano H, Waggoner J, Almeida C, Rivera L, Benjamin J, Pinsky BA et al. "Coinfecciones por el virus del Zika y el virus del Chikungunya: una serie de tres casos de un solo centro en Ecuador". *La revista americana de medicina e higiene tropical* [internet] 2016 [consultado 15 Sep 2021]: 95(49):894-896. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5062796/>
39. Crespillo C, Díaz M, Trigo E, Arsuaga M, De la Calle F, Lago M. Characteristics of Zika virus infection among international travelers: A prospective study from a Spanish referral unit. *Travel Med Infect Dis* [Internet] 2020 [consultado 16 Sep 2021];33(1) :101543. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31805400/>
40. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Brote de virus Zika, Bahía, Brasil. *Emerg Infect Dis* [Internet] 2015 [consultado 16 Sep 2021]; 21 (10): 1885-1886. Disponible en <https://doi.org/10.3201/eid2110.150847>
41. Mittal R, Nguyen D, Debs LH, Patel A, Liu G, Jhaveri J et al. Zika Virus: An Emerging Global Health Threat. *Front Cell Infect Microbiol.* [internet] 2017 [consultado 17 Sep 2021];7 (486). Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29276699/>
42. Delman D, Hills S, Charnetta M, Galang R, Iyengar P, Hennenfent A et al. Zika Virus Infection Among U.S. Pregnant Travelers — August 2015–February 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet] 2016 [consultado 17 sep 2021]: 65(8):211-214. Disponible en <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6508e1.htm#suggestedcitation>
43. Chibueze EC, Tirado V, Katharina da SL, Balogun OO, Takemoto Y, Swa T, et al. Zika virus infection in pregnancy: a systematic review of disease course and complications. *Rev Reproductive Health* [Internet] 2017 [consultado 20 Sep 2021]: 14 (28). Disponible en <https://www.proquest.com/docview/1874875987/A8A5A44E371E4000PQ/7?accountid=36757>
44. Honein M, Dawson A, Petersen E, Jones A, Lee E, Yazdy M et al. Birth defects among fetuses and infants of US women with evidence of possible zika virus infection during pregnancy. *JAMA - Revista de la Asociación Médica Estadounidense* [Internet]. 2017 [consultado 20 Sep 2021]; 317(1): 59-68. Disponible en

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85008419401&origin=refflist&sort=plff&src=s&nlo=&nlr=&nls=&sid=7537e80141e057aabb7bad6b5c9bae4&sot=b&sdt=b&sl=35&s=TITLE-ABS-KEY%28Zika+virus+infection%29>

45. Acevedo N, Waggoner J, Rodriguez M, Rivera L, Landivar J, Pinsky B, *et al.* Zika Virus, Chikungunya Virus, and Dengue Virus in Cerebrospinal Fluid from Adults with Neurological Manifestations, Guayaquil, Ecuador. *Front Microbiol* [Internet] 2017 [Consultado 22 Sep 2021]; 8 (42). Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28174559/>
46. Magalhães M, Prata A, Robaina J, Raymundo C, Lima F, Cunha A. Trends of the microcephaly and Zika virus outbreak in Brazil, January-July 2016. *Travel Med Infect Dis* [internet] 2016 [Consultado 26 Sep 2021];14(5):458-463. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27702683/>
47. Castro M, Goncé A, Fumadó V, Martínez MJ, López M, García-Otero L *et al.* Zika virus infection in pregnant travellers and impact on childhood neurodevelopment in the first two years of life: A prospective observational study: Zika virus in pregnancy and children's neurodevelopment. *Rev Medicina de viaje y enfermedades infecciosas* [Internet].2021 [Consultado 26 Sep 2021];40 (1). 101985. Disponible en doi: 10.1016 /j.tmaid.2021.101985
48. Benavides A, Barboza M, González M, De Mezerville M, Brenes H, Ramírez M. Zika virus-associated birth defects, Costa Rica, 2016-2018. *Emerging Infectious Diseases* [Internet].2021 [Consultado 26 Sep 2021]; 27(2): 360 – 371. Disponible en doi: 10.3201 /EID2702.202047
49. Sánchez M. Infección del virus zika durante el embarazo. *Revista Médica Sinergia* [Internet].2017 [Consultado 28 Sep 2021]; 2(9): 3-7. Disponible en <https://www.medigraphic.com/pdfs/sinergia/rms-2017/rms179a.pdf>
50. Antoniou E, Orovou E, Sarella A, Iliadou M, Rigas N, Palaska E *et al.* El virus del Zika y el riesgo de desarrollar microcefalia en bebés: una revisión sistemática. *Int J Environ Res Salud Pública* [Internet] 2020 [Consultado 28 Sep 2021]; 17 (11): 3806. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7312578/#B21-ijerph-17-03806>
51. Hoen B, Schaub B, Funk AL, Ardillon V, Boullard M, Cabié A. Pregnancy Outcomes after ZIKV Infection in French Territories in the Americas. *N Engl J Med* [Internet]

- 2018 [Consultado 13 Octu 2021]; 378(11):985-994. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29539287/>
52. Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak M, Mraz J. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med* [Internet] 2016 [Consultado 14 Octu 2021]; 374(10):951-8. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26862926/>
53. Rice M, Galang R, Roth N, Ellington S, Moore C, Valencia E, *et al.* Zika-Associated Birth Defects and Neurodevelopmental Abnormalities Possibly Associated with Congenital Zika Virus Infection - U.S. Territories and Freely Associated States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet] 2018 [Consultado 15 Octu 2021]:10; 67(31):858-867. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30091967/>
54. Low S, Leo YS, Lai YL, Lam S, Tan HH, Ching Wong JC, *et al.* Evaluation of eight commercial Zika virus IgM and IgG serology assays for diagnostics and research. *PLoS ONE* [Internet] 2021 [Consultado 16 Oct 2021]; 16 (1): e0244601. Disponible en <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0244601>
55. Balmaceda A, Zambrana J, Collado D, Garcia N, Saborio S, Elizondo D. Comparison of four Serological methods and two reserve transcripción PCR Assays for diagnosis and surveillance of zika virus infección. *Journal of Clinical Microbiology* [internet] 2018 [Consultado 15 Oct 2021]; 56(3): 56.e01785-17. Disponible en <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01785-17>
56. Lustig Y, Koren R, Biber A, Zuckerman N, Mendelson E, Schwartz E. Screening and exclusion of Zika virus infection in travellers by an NS1-based ELISA and qRT-PCR. *Clin Microbiol Infect* [Internet] 2020 [Consultado 16 Oct 2021]; 26(12): 1687.e7-1687. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32151598/>
57. Singh R, Dhama K, Karthik K, Tiwari R, Khandia R, Munjal A, *et al.* Advances in Diagnosis, Surveillance, and Monitoring of Zika Virus: An Update. *Front Microbiol* [Internet] 2018 [Consultado 18 Oct 2021] 19 (8) 2677. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29403448/>
58. Escalante O, Gustavo R Paquita M, Marcelo A, Pacheco E, Cabezas C, *et al.* Desarrollo y validación del método de amplificación isotérmica mediada en lazo para la detección del virus Zika. *Rev Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* [Internet] 2019 [Consultado 15 Oct 2021]; 36 (3): 442-447. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172646342019000300442&script=sci_art_text

59. Granger D, Theel E. Evaluation of a rapid immunochromatographic assay and two enzyme-linked immunosorbent assays for detection of IgM-class antibodies to Zika virus. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet] 2019 [Consultado 18 Oct 2021]; 57(3):13-18. Disponible en doi 10.1128 / JCM.01413-18
60. Mendoza E, Makowski K, Barairo N, Holloway K, Dimitrova K, Sloan A, et al. Establishment of a comprehensive and high throughput serological algorithm for Zika virus diagnostic testing. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet] 2019 [Consultado 19 Oct 2021]; 94 (2):140-146. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30744915/>
61. L'Huillier A, Hamid A, Kristjanson E, Papageorgiou L, Hung S, Wong C, et al. Evaluation of Euroimmun Anti-Zika Virus IgM and IgG Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Zika Virus Serologic Testing. *J Clin Microbiol* [Internet] 2017 [Consultado 19 Oct 2021]; 55 (8):2462-2471. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28566316/>
62. Matheus S, Talla C, Labeau B, de Laval F, Briolant S, Berthelot L, Vray M, Rousset D. Performance of 2 Commercial Serologic Tests for Diagnosing Zika Virus Infection. *Emerg Infect Dis* [internet] 2019 [Consultado 19 Oct 2021]; 25(6):1153-1160. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31107211/>
63. Morales I, Rosenberger K, Magalhaes T, Morais C, Braga C, Marques E. Diagnostic performance of anti-Zika virus IgM, IgAM and IgG ELISAs during co-circulation of Zika, dengue, and chikungunya viruses in Brazil and Venezuela. *PLOS neglected tropical disease* [Internet] 2021 [Consultado 19 Oct 2021]; 15(4): e0009336. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009336>
64. Bozza F, Moreira A, Rockstroh A, Fischer C, Nascimento D, Calheiros A et al. Differential shedding and antibody kinetics of zika and Chikungunya viruses, Brazil. *Emerg Infect Dis* [Internet] 2019 [Consultado 20 Oct 2021]; 25(2):311-315. Disponible en doi: 10.3201 / eid2502.180166
65. Portilho M, Moraes L, Kikuti M, Nascimento L, Reis M, Boaventura V, et al. Accuracy of the Zika IgM antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay from the centers for disease control and prevention (CDC Zika MAC-ELISA) for diagnosis of zika virus infection. *Diagnostics* [Internet] 2020 [Consultado 18 Oct 2021]; 10(10):853. Disponible en doi: 10.3390 / diagnosticos10100835
66. Pereira C, Gaviria L, Zea S, Jaramillo P. Descripción de pruebas moleculares en el diagnóstico del virus Zika en el periodo 2008-Febrero 2018. Revisión sistemática.

Rev Nova [Internet] 2018 [Consultado 18 Oct 2021]:16(30): 81-93. Disponible en <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/2838>

67. Hussien D, Tesfaye T, Simachew S, Feleke A, Lako D. Molecular and Immunological Diagnostic Techniques of Medical Viruses. *International Journal of Microbiology* [Internet] 2020 [Consultado 15 Oct 2021]; 2020 (1):1-19. Disponible en <https://www.proquest.com/docview/2442159392/fulltextPDF/CD51088F8BF049FC/PQ/1?accountid=36757>
68. Teoh B, Chin K, Samsudin N, Loong S, Sam S, Tan K, Khor CS, Abd-Jamil J, Zainal N, Wilder-Smith A, Zandi K, AbuBakar S. A reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for broad coverage detection of Asian and African Zika virus lineages. *Rev BMC Infect Dis* [Internet].2020 [Consultado 25 Sep 2021]; 11;20(1): 947.Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33308203/>

ANEXOS

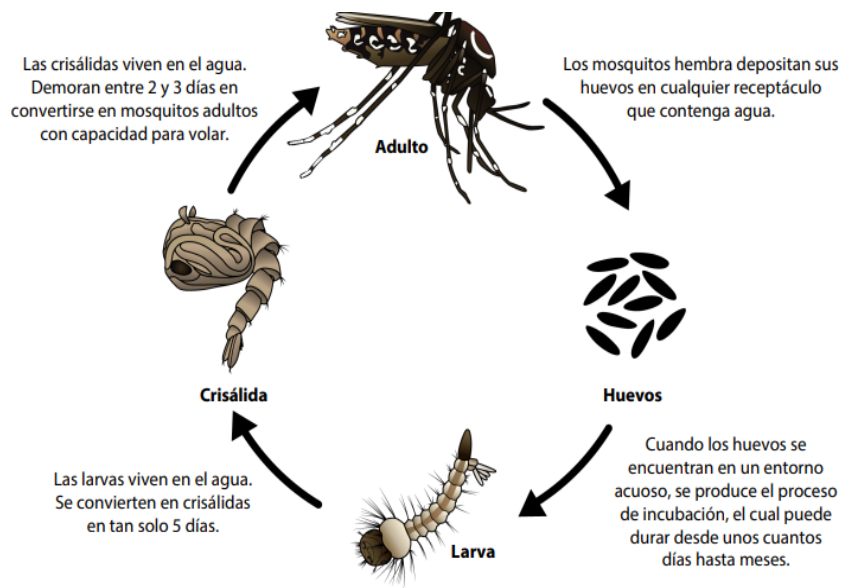
Anexo 1: Países de América Latina con casos de Zika



*La isla de San Martín se compone en la parte norte de San Martín, una colectividad de ultramar francesa, y en la parte sur de Sint Maarten un estado independiente del Reino de los Países Bajos.

Fuente. León Y, Baldassarri L, Hummel H, Cherem J. Zika: un problema de salud pública Rev atención primaria.2017.vol 24 (3). Disponible en <https://www.elsevier.es/en-revista-atencion-familiar-223-articulo-zika-un-problema-salud-publica-S1405887117300433>

Anexo 2: Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti*



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention. Ciclo de vida del mosquito. cdc.gov [Internet].2020 Disponible en <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/spanish/MosquitoLifecycle-sp.pdf>

Anexo 3. Comparación de manifestaciones clínicas entre los virus Dengue, *Chikungunya* y Zika

Sintomatología	Dengue	Chikungunya	Zika
Fiebre	++++	+++	+++
Mialgias	+++	++++	++
Artralgias	+++	++++	++
Edema de extremidades	0	0	++
Rash maculopapular	++	++	+++
Dolor retro-orbital	++	+	++
Conjuntivitis	0	+	+++
Linfadenopatías	++	++	+
Hepatomegalia	0	+++	0
Leucopenia	+++	+++	0
Trombocitopenia	+++	+++	0*
Hemorragias	+	0	0*

Fuente: Núñez E, Vásquez M, Beltrán B, Padgett. Virus Zika en Centroamérica y sus complicaciones. Rev Acta Med Peru.2016. Disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v33n1/a08v33n1.pdf>



Receta solamente

Instrucciones para Uso – ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA

USO ANTICIPADO

ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA tiene la intención de la detección cualitativa de anticuerpos IgM de virus Zika en suero humano para el diagnóstico presuntivo de laboratorio clínico de infección por virus Zika. Este ensayo está intencionado para uso solamente en pacientes con signos y síntomas clásicos consistentes con infección por virus Zika, y/o criterios epidemiológicos de virus Zika de la CDC (por ejemplo, historia de residencia en o viajes a una región geográfica con transmisión activa de Zika a la hora del viaje, u otros criterios epidemiológicos para los cuales evaluación del virus Zika podría indicarse). Los resultados del ensayo son para la detección presuntiva de anticuerpos IgM al virus Zika (ZIKV). Resultados positivos deben ser confirmados al seguir las directrices más recientes de la CDC para el diagnóstico de infección por virus Zika.

Los resultados de esta prueba están intencionados para usarse en conjunción con observaciones clínicas, historia de pacientes, información epidemiológica, y otra evidencia de laboratorio para tomar decisiones sobre el manejo de pacientes. Niveles de Zika IgM varían durante el curso de la infección, y pueden ser detectables cerca del cuarto día después del inicio de síntomas y persistir por hasta aproximadamente 12 semanas después de la infección inicial.

Resultados negativos se pueden ver en muestras colectadas antes del cuarto día después del inicio de síntomas o después de que la ventana de IgM detectable haya cerrado, y por ende no imposibilitan la posibilidad de infección por virus Zika, previa o actual.

Este ensayo no está indicado para evaluación de donantes de sangre o plasma.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La enfermedad del virus Zika (Zika) es una enfermedad causada por el virus Zika que se transmite a personas principalmente por la picadura de un mosquito infectado del género *Aedes*, principalmente *Aedes aegypti* en regiones tropicales. Este es el mismo mosquito que transmite dengue, chikungunya, y fiebre amarilla. Síntomas de Zika son fiebre, sarpullido, dolor de articulaciones, y conjuntivitis (ojos rojos); sin embargo, solamente alrededor de 20% de infecciones presentan síntomas. La enfermedad usualmente es leve, con síntomas que duran por varios días hasta una semana después de la picadura del mosquito infectado. El virus Zika se descubrió por primera vez en 1947 y su nombre viene del bosque Zika en Uganda. En 1952, se detectaron los primeros casos humanos de Zika y desde entonces, brotes de Zika se han reportado en la África tropical, el sureste de Asia, y las Islas Pacíficas. A lo mejor, brotes de Zika han ocurrido en muchos lugares, pero sigue sin reconocimiento porque los síntomas son similares a muchas otras enfermedades como dengue y chikungunya. En mayo de 2015, la Organización Panamericana de la Salud (PAHO) emitió una alerta en cuanto a la primera infección por virus Zika confirmada en Brasil, y el 1 de febrero 2016, la Organización Mundial de la Salud (WHO) declaró que el virus Zika era una emergencia de salud pública de preocupación internacional (PHEIC). La transmisión local se ha reportado en muchos otros países y territorios. De mucha preocupación es el efecto que el virus Zika puede tener en mujeres embarazadas. La infección por virus Zika durante el embarazo se ha asociado con la microcefalia congénita y otros defectos del cerebro en fetos y recién nacidos. La transmisión sexual del virus Zika también es de mucha preocupación y se han reportado casos en los Estados Unidos de personas que contraen la enfermedad de sus compañeros.

ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA busca anticuerpos IgM en suero humano.

PRINCIPIOS DE LA PRUEBA

ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA es un inmunoensayo de captura ligado a enzimas para la detección de anticuerpos IgM humanos que se enfocan en las glicoproteínas de envolvimiento de ZIKV. Pozos de micro-titulación de poliestireno se cubren previamente con anticuerpos policlonales de captura contra IgM humano. Control Positivo, Control Negativo, y muestras desconocidas de prueba se diluyen dentro de un buffer de dilución de muestras, y entonces se agregan al plato de ELISA en ubicaciones adecuadas (véase el Ejemplo de Diseño del Plato). Después de incubación y lavado, un antígeno ZIKV (Zika Ag) listo para usar (RTU), un Antígeno de Control de Reactividad Cruzada (CCA), y un Antígeno Normal de Célula (NCA) subsiguientes se agregan por separado a cada pozo correspondiente. Después de incubación y lavado, una solución secundaria lista para usar de anticuerpos se agrega a cada pozo. Después de un paso subsiguiente de incubación y lavado, se agrega una solución de conjugado de enzimas que abarca anticuerpos anti-ratón etiquetados con peroxidasa de rábano picante a cada pozo. Después de un lavado, los pozos se incuban con un sustrato de tetrametilbenzidina (TMB). Entonces, se le agrega una solución ácida de paro, y el grado de cambio enzimático se determina por medición de absorción (densidad óptica) a 450 nanómetros. Si anticuerpos IgM humanos que se enfocan en las glicoproteínas de envolvimiento de ZIKV están presentes, se forma un complejo que consiste en el IgM, antígeno, anticuerpo secundario, y conjugado. Si no se observan anticuerpos IgM que se enfocan en las glicoproteínas de envolvimiento de ZIKV, entonces se lavan el antígeno, el anticuerpo, y el conjugado.

El análisis de los resultados incorpora tanto los valores crudos de OD₄₅₀ y las tasas que comparan la reactividad de una muestra con un antígeno dado para categorizar adecuadamente la muestra.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Advertencia: No utilice cualquier reactivo donde haya ocurrido algún daño con el empaquetado.

ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA contiene reactivos suficientes para un plato de 96 pozos (tiras de 12 x 8) para IgM humano que se enfoca en el virus Zika. Esto es suficiente para analizar una cantidad máxima de 28 muestras desconocidas para IgM humano, con controles incluidos en duplicado.

Abajo hay una lista de los contenidos del kit:

- 1. Tiras de Prueba Cubiertas de Micro-titulación para IgM (1 plato que contiene doce tiras de 1x8 para IgM humano):** Contenedor de tiras de plato ELISA con 96 (tiras de 12x8) pozos de micro-titulación de poliestireno cubiertos previamente con anticuerpos de captura específicos para IgM humano. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
- 2. Control Negativo ZIKV IgM (1x50 µL):** El control negativo ayuda a verificar la validez del kit. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de usar para sedimentar cualquier precipitado.
- 3. Control Positivo ZIKV IgM (1x50µL):** El control positivo ayuda a verificar la validez del kit. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de usar para sedimentar cualquier precipitado.
- 4. Buffer de Dilución de Muestras ZIKV (1x25mL):** Esta solución de buffer se utiliza para diluir todas las muestras y controles de suero antes del análisis en ELISA. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
- 5. Listo para Usar Antígeno Recombinante de ZIKV para IgM (1x3mL):** Este frasco contiene antígeno ZIKV (Zika Ag) listo para usar (RTU) que abarca glicoproteínas de envolvimiento de Zika. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
- 6. Antígeno de Control de Reactividad Cruzada para ZIKV IgM (1x3mL):** Este frasco contiene un cóctel de antígeno de control de reactividad cruzada (CCA). Esto se usa para ayudar con la interpretación de los resultados de ELISA. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
- 7. Antígeno Normal de Célula para ZIKV IgM (1x3mL):** Este frasco contiene un antígeno normal de control (NCA). Esto se usa para ayudar con la interpretación de los resultados de ELISA. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
- 8. Listo para Usar Anticuerpo Secundario (1x9mL):** Este frasco contiene anticuerpos secundarios que se enfocan en los antígenos de flavivirus. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.

9. **Conjugado de 100X para ZIKV IgM (1x150µL):** Este frasco contiene anticuerpos anti-ratón etiquetados con peroxidasa de rábano picante. Mezcle bien antes de usar. El Conjugado de 100X se agrega al Diluyente de Conjugado antes de usar. Almacene el conjugado de 100X sin diluir a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento..
10. **Diluyente de Conjugado para ZIKV (1x9mL):** Esta solución se usa para diluir el conjugado de 100X antes de agregarlo al plato de ELISA. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
11. **10X Buffer de Lavado (1x120mL):** Una botella de Buffer de Lavado de 10X concentrado se usa tal y como se indica en Procedimiento de la Prueba. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
12. **Sustrato Líquido de TMB (1x12mL):** Sustrato cromogénico que es reactivo a la peroxidasa de rábano picante para generar la señal óptica medida por el espectrofotómetro de ELISA. El sustrato es sensible a luz. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
13. **Solución de Paro (1x9mL):** Se usa para parar la reacción según indicado en el Procedimiento de la Prueba. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimie.

Precaución: Ácido fuerte, lleve guantes protectores, mascarilla y lentes de seguridad. Deseche todos los materiales según las reglas y regulaciones de seguridad.

MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Espectrofotómetro ELISA capaz de medición de absorción a 450nm
- Agua biológica o de alto grado
- Bomba aspiradora
- Lavador de platos
- Incubador de 37°C sin suministro CO₂ o humidificación
- Pipeteadores de un único canal de 1-10µL. Pipeteadores de un único canal y multicanales de 50-200µL
- Puntas de pipeta filtradas – recomendado para reducir la contaminación cruzada
- Tubos de polipropileno
- Cubierto de plato adhesivo o de plástico
- Minutero
- Vórtice

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES

PARA USO EN PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO *IN VITRO*. Una comprensión extensiva de las instrucciones de uso es necesario para el uso exitoso del producto. Resultados de confianza sólo se obtendrán al usar técnicos precisos de laboratorio y seguir precisamente estas instrucciones de uso.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Se recomienda que los laboratorios realicen una evaluación de riesgos al realizar pruebas nuevas, y las precauciones de seguridad deben basarse en la evaluación de riesgos del laboratorio. Por favor repase la orientación de la CDC para los laboratorios estatales y locales de salud pública: <http://www.cdc.gov/zika/state-labs/index.html>.

Véase la Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (BMBL) para más información de bioseguridad sobre estos virus y prácticas de bioseguridad de laboratorio.

Este procedimiento debe realizarse bajo condiciones de seguridad de laboratorio que tomen en cuenta la naturaleza potencialmente infecciosa de las muestras de suero involucradas. Como mínimo, se recomienda que estos procedimientos se realicen usando facilidades BSL-2 y prácticas BSL-3. Para garantizar la seguridad del personal de laboratorio, realice todas las manipulaciones de muestras dentro de un Laboratorio de Seguridad Biológica (BSL) de Clase II (o más alto).

- Todos los materiales de fuente humana usados en la preparación de los controles o se han desactivado por calefacción o dado resultado negativo para anticuerpos al antígeno de superficie de VIH 1&2, Hepatitis C, y Hepatitis B. Sin embargo, no hay método de prueba que garantice efectividad de desactivación al 100%. Por eso, todos los controles y antígenos humanos deben manejarse como materiales potencialmente infecciosos. Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades y los Institutos Nacionales de la Salud recomiendan que los agentes potencialmente infecciosos se manejen al Nivel 2 de Bioseguridad.

- No coma, beba, fume, o aplique cosméticos donde se manejan materiales inmunodiagnósticos.
- No pipeteo por la boca.

PRECAUCIONES TÉCNICAS

- Esta prueba solamente se debe realizar con suero. El uso de sangre entera, plasma, u otros matrices de muestra no se ha validado.
- No mezcle varios lotes de cualquier componente del kit dentro de un ensayo singular.
- No desactive por calefacción el suero de prueba.
- Todos los reactivos deben equilibrarse a temperatura ambiente (20-25°C) antes de comenzar el ensayo. El ensayo se verá afectado por cambios de temperatura.
- Evite la congelación y descongelación repetida de las muestras de suero que se analizarán.
- Al diluir los controles y el suero de prueba en el buffer de dilución de muestras para su uso en el análisis de ELISA, es **crítico** que se utilice **una nueva punta de pipeta** para cada muestra para evitar la contaminación cruzada. Cuidese de asegurarse de que el eje de la pipeta no tenga contacto con la muestra y/o buffer de dilución de muestra. Se recomienda utilizar puntas de pipeta filtradas para reducir aún más la posibilidad de contaminación.
- **Todos los reactivos son susceptibles a la contaminación;** por eso, se recomienda dispensar los reactivos directamente de las botellas usando pipetas limpias o por verter cuidadosamente. Las pipetas se deben usar **solamente una vez** para evitar contaminación de los componentes.
- Micro-pocillos sin usar deben resellarse de inmediato y almacenarse en la presencia de desecante. El no hacer esto puede ocasionar resultados erróneos con esos micro-pocillos sin usar.
- No utilice cualquier componente después de la fecha de vencimiento que se demuestra en su etiqueta.
- Evite la exposición de reactivos al calor excesivo o luz directa del sol durante almacenamiento e incubación.
- No utilice un incubador humidificado o un baño de agua para los pasos de incubación a 37°C. El hacer esto puede producir resultados erróneos.
- Algunos reactivos pueden formar un leve precipitado. Mezcle suavemente hasta que todo el precipitado vuelva a la solución antes de usar.
- El lavado incompleto afectará de manera adversa el resultado y rendimiento del ensayo.
- Para disminuir la deriva potencial del ensayo debida a variación en el tiempo de incubación del sustrato, se debe tomar cuidados en agregar la solución del paro dentro de los pozos en el mismo orden y con la misma rapidez usado para agregar la solución de TMB.
- Evite la contaminación microbio de reactivos.
- Cubra la zona de trabajo con papel absorbente desechable.

ADVERTENCIA:

MATERIALES POTENCIALMENTE BIO-PELIGROSOS

Este kit contiene reactivos hechos con suero o plasma humano. El suero o plasma utilizado se ha desactivado por calefacción a menos que indique lo contrario. Maneje todos los sueros y kits utilizados como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra peligros microbiológicos al realizar todos los procedimientos, y siga los procedimientos estándares para el desecho adecuado de muestras.

LIMITACIONES

- Los resultados del dispositivo están intencionados para seguir según las directrices profesionales más recientes (por ejemplo, recomendaciones de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades) para el diagnóstico de infección por virus Zika. Repase la última información acerca del diagnóstico de la enfermedad del virus Zika en el sitio web de la CDC: <http://www.cdc.gov/zika/laboratories/lab-guidance.html>.
- Los resultados no están intencionados para usarse como base única para diagnóstico, tratamiento, u otras decisiones de manejo de pacientes. Los resultados de la prueba deben ser interpretados en conjunción con observaciones clínicas, historia de pacientes, información epidemiológica, y otra evidencia de laboratorio.
- Resultados negativos de prueba no imposibilitan la posibilidad de infección por virus Zika, previa o actual.

- Muestras pueden dar un resultado negativo falso en el dispositivo si se colectan fuera de la ventana adecuada de respuesta para los anticuerpos IgM del virus Zika (antes de 7 días después del inicio de síntomas (PSO) o después de 84 días PSO con este ensayo).
- Características de rendimiento del ensayo no se han establecido para matrices que no sean suero.
- Características de rendimiento del ensayo no se han establecido para evaluación de niños con menos de 5 años de edad.
- Resultados de pacientes inmunosuprimidos deben interpretarse con precaución.
- Esta prueba puede tener reactividad cruzada con los siguientes organismos/enfermedades y pueden producir resultados positivos falsos: Dengue, virus del Nilo Oeste, virus de la Fiebre Amarilla, Chikungunya, Babesia, enfermedad de Lyme, y Malaria.
- Niveles altos de HAMA (>80ng/mL) pueden producir resultados negativos falsos.
- Concentraciones elevadas de hemoglobina >20mg/mL pueden interferir con las interpretaciones de OD; por eso, muestras hemolizadas no deben analizarse.
- Ocasionalmente, muestras con valores altos de OD₄₅₀ tanto para Zika Ag como CCA pueden ser clasificados erróneamente por ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA como "Positivo Presuntivo para Otro Flavivirus" en lugar de "Positivo Presuntivo para Zika". Análisis confirmatorio adicional se recomienda en estos casos.
- Los resultados del ensayo deben interpretarse solamente por un profesional orientado en el contexto de otros hallazgos de laboratorio, historia del paciente, y signos y síntomas clínicos.

COLECTA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Sólo se debe usar suero para este ensayo, y las precauciones usuales de acceso venoso deben observarse. La sangre obtenida por acceso venoso debe permitirse coagularse a temperatura ambiente (20-25°C) por 30-60 minutos y entonces centrifugada de acuerdo con las recomendaciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (Directrices Aprobadas del CLSI – Procedimientos para el Manejo y Procesamiento de Muestras de Sangre para Pruebas Rutinarias de Laboratorio).
- El análisis se debe realizar tan pronto como posible después de la colecta. No deje el suero a temperatura ambiente por periodos prolongados. El suero separado debe permanecer a 20-25°C por no más de 8 horas. Si los ensayos no se finalizan dentro de las 8 horas, el suero debe refrigerarse a 2-8°C. Si los ensayos no se finalizan dentro de las 48 horas, o el suero separado debe almacenarse por más de 48 horas, el suero debe congelarse a o bajo -20°C. (Directrices Aprobadas del CLSI – Procedimientos para el Manejo y Procesamiento de Muestras de Sangre para Pruebas Rutinarias de Laboratorio)
- Para almacenamiento a largo plazo, las muestras deben almacenarse a -20°C o más frío. Congeladores sin escarcha no son aptos para el almacenamiento de muestras.
- Las muestras de suero no deben congelarse y descongelarse repetidamente más de tres veces. Si se espera ciclos repetidos de congelación-descongelación, el suero debe ser alicuotado más profundamente a un volumen más pequeño.
- Muestras congeladas deben descongelarse a temperatura ambiente y mezclarse a fondo mediante remolino o inversión suave antes de utilizarse. Siempre realice un giro rápido antes de utilizarse.
- Si el suero debe enviarse, debe empaquetarse en cumplimiento con las Regulaciones Federales acerca de la transportación de agentes infecciosos.
- No utilice el suero si se observa cualquier indicación de crecimiento de microbios.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

PRECAUCIÓN: El procedimiento de la prueba debe seguirse estrictamente. Cualquier desviación del procedimiento puede producir resultados erróneos. Traiga todos los reactivos y las muestras del kit a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de utilizar. Mezcle a fondo los reactivos y las muestras antes de utilizar mediante inversión suave.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- **Preparación del 1X Buffer de Lavado:**

Diluya el 10X Buffer de Lavado a 1X usando agua biológica o de alto grado. Para preparar una solución de 1X Buffer de Lavado, mezcle 120mL de 10X Buffer de Lavado con 1080mL de agua destilada (o desionizada) y enjuague cualquier cristal. Arremoline hasta que esté bien mezclado y todos los cristales estén disueltos. Después de diluir a 1X, almacene a temperatura ambiente por hasta 6 meses. Revise para contaminación antes de utilizar. Deseche si hay sospecha de contaminación.

- **Pozos de Tira de Micro-titulación:**

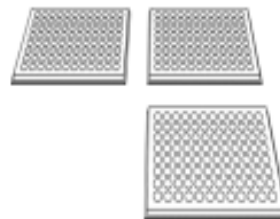
Seleccione el número de pozos cubiertos requeridos para el ensayo. Los pozos restantes sin usar deben ser rápidamente insertados nuevamente al paquete, sellados, y almacenados a 2-8°C hasta que estén listos para usar o se venzan.

- **Preparación de la Solución de Conjugado:**

Agregue 90µL de 100X Conjugado para ZIKV IgM directamente a la botella de 9mL de Diluyente de Conjugado para ZIKV (1 parte:100 partes). Mezcle al invertir la solución varias veces. Por favor tome nota que volúmenes más pequeños del 100X Conjugado pueden diluirse dentro del volumen correspondiente de Diluyente de Conjugado (1 parte:100 partes). Se debe preparar una nueva Solución de Conjugado con cada ensayo que se realice. El 100X Conjugado para ZIKV IgM sin diluir que se almacene a 2-8°C es estable para la duración de la vida útil del kit.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Los controles positivos y negativos deben analizarse en duplicado con las partes Zika Ag, CCA, y NCA del ensayo. Muestras desconocidas de suero a ser analizadas se analizan singularmente y deben analizarse con el Zika Ag, CCA, y NCA. Vea el Ejemplo de Diseño del Plato al final de estas instrucciones de uso.
2. Indique las tiras de micro-titulación a utilizarse.
3. Usando una nueva punta de pipeta cada vez, diluya el suero de prueba y los controles a 1/100 usando el Buffer de Diluyente de Muestra proporcionado. Asegúrese de evitar contaminación debido a aerosoles o contaminación de la pipeta. Utilice pequeños tubos de polipropileno para estas diluciones y por lo menos 4µL de suero y controles positivos y negativos. Coloque el volumen entero de Buffer de Dilución de Muestra dentro del tubo de polipropileno primero, y entonces agregue el suero y los controles. Por ejemplo: coloque 396µL de Buffer de Dilución de Muestras ZIKV dentro de un tubo y agregue 4µL de muestra de suero para hacer una dilución de 1/100. No repite el mismo pipeteador en cualquier momento durante el proceso de dilución de la muestra. Asegúrese de que la muestra esté mezclada a fondo y de manera uniforme dentro del buffer de dilución de muestra. Esto se puede hacer o mediante vórtice/inversión del tubo de dilución o por pipetear por arriba y abajo por lo menos 8 veces usando >100µL de volumen de mezcla. Si el tubo de dilución se mezcla mediante vórtice o inversión, gire el tubo brevemente en una centrifuga para asegurarse de que no se aerosolice ninguna líquida cuando se abre el tubo.
4. Por favor véase el **Ejemplo del Diseño del Plato** para un método sugerido de colocación de la muestra. Por pozo, aplique 50µL de suero de prueba diluido a 1/100, Control Negativa ZIKV IgM, y Control Positivo ZIKV IgM usando pipeteadores de un único canal o multicanales, según sea adecuado. Los controles positivos y negativos deben realizarse en duplicado en cada plato a analizarse. Al aplicar las muestras, evite burbujas. Cubra el plato con un cubierto de plato adhesivo o de plástico solamente en la superficie de abertura de los pozos, para que el fondo del plato no esté cubierto.
5. Incube el plato a 37°C (± 2°C) por **1 hora** (± 5 minutos) en un incubador.



6. Después de la incubación, lave el plato 6 veces con un lavador automático de platos usando el 1X Buffer de Lavado. Utilice 300µL por pozo en cada ciclo de lavado.
7. Agregue 50µL por pozo de Zika Ag, 50µL por pozo de CCA, y 50µL por pozo de NCA dentro de los pozos correspondientes por pipeteador multicanal. Por favor vea el **Ejemplo de Diseño del Plato** para un método de ejemplo de colocación de muestra y adición de antígeno.
 - a. Cubra el plato con un cubierto de plato adhesivo o de plástico solamente en la superficie de apertura de los pozos. El fondo del plato no se debe cubrir (véase el paso 4).
 - b. Incube el plato a 37°C (± 2°C) por **1 hora** (± 5 minutos) en un incubador (véase el paso 5).
 - c. Después de la incubación, lave el plato 6 veces con un lavador automático de platos usando el 1X Buffer de Lavado. Utilice 300µL por pozo en cada ciclo de lavado.
8. Agregue 50µL por pozo de la Solución Lista para Usar de Anticuerpos Secundarios dentro de todos los pozos usando un pipeteador multicanal.
 - a. Cubra el plato con un cubierto de plato adhesivo o de plástico solamente en la superficie de apertura de los pozos. El fondo del plato no se debe cubrir (véase el paso 4).
 - b. Incube el plato a 37°C (± 2°C) por **30 minutos** (± 2 minutos) en un incubador (véase el paso 5).
 - c. Después de la incubación, lave el plato 6 veces con un lavador automático de platos usando el 1X Buffer de Lavado. Utilice 300µL por pozo en cada ciclo de lavado.
9. Prepare un volumen nuevo de Solución de Conjugado (véase la sección de Preparación de Reactivos) por diluir los volúmenes adecuados del Conjugado de Enzimas 100X dentro del Diluyente de Conjugado (1 parte:100 partes).
10. Agregue 50µL por pozo de la Solución de Conjugado dentro de todos los pozos por pipeteador multicanal.
 - a. Cubra el plato con un cubierto de plato adhesivo o de plástico solamente en la superficie de apertura de los pozos. El fondo del plato no se debe cubrir (véase el paso 4).
 - b. Incube el plato a 37°C (± 2°C) por **30 minutos** (± 2 minutos) en un incubador (véase el paso 5).
 - c. Después de la incubación, lave el plato 6 veces con un lavador automático de platos usando el 1X Buffer de Lavado. Utilice 30 µL por pozo en cada ciclo de lavado.
11. Agregue 75µL/pozo de Sustrato Líquido de TMB dentro de todos los pozos usando un pipeteador multicanal.
12. Incube el plato a temperatura ambiente (20-25°C) en un lugar oscuro (o contenedor) por **20 minutos** (± 30 segundos) **sin cubrir el plato**.
13. Después de la incubación, agregue 50µL/pozo de Solución de Paro dentro de todos los pozos por pipeteador multicanal e incube a temperatura ambiente por un mínimo de 1 minuto sin cubrir el plato, y entonces proceda con la interpretación de la densidad óptica. La densidad óptica debe interpretarse dentro de los 30 minutos después de agregar la Solución de Paro, ya que las densidades ópticas pueden comenzar a cambiar sobre un periodo prolongado de tiempo.
14. Después de la incubación, interprete el valor **CRUDO** de OD 450 nm (densidad óptica a 450 nm) con un intérprete de micro plato. **NO sustraiga o normalice para cualquier valor o pozo en blanco. NO utilice un rango de onda de referencia.** Esto puede resultar en valores bajos de CCA y NCA y valores incorrectos de ISR.

CONTROL DE CALIDAD Y EJEMPLO

Los materiales de control a ser utilizados con la prueba de ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA incluyen muestras de control positivas y negativas. Los controles positivos y negativos deben realizarse en duplicado en cada plato que se analiza. Los valores aceptables para estos controles se demuestran abajo. Los controles negativos y positivos están intencionados para monitorear para falla substancial de reactivos. Además, el control negativo proporciona información sobre los límites aceptables de OD crudo para muestras potencialmente positivas para Zika. La prueba es inválida y debe repetirse si cualquier de los controles no cumplen con las especificaciones. Si la prueba es inválida, los resultados del paciente no pueden reportarse. Requerimientos de Control de Calidad (QC) deben realizarse en cumplimiento con regulaciones o requerimientos de acreditación locales, estatales, y/o federales y los procedimientos estándares de QC del laboratorio del usuario. Se recomienda que el usuario se refiera a CLSI C24-A y 42 CFR 493 1256 para orientación acerca de prácticas adecuadas de QC.

Los materiales crudos utilizados en los controles positivos y negativos se adquieren a través de varios vendedores comerciales de suero. Sin embargo, estos sueros son procesados y titulados por InBios Internacional para cada lote de kit de ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA. Los usuarios deben usar los controles específicos al lote proporcionados por InBios para validar todas las realizaciones. No use controles de lotes diferentes de reactivos.

Los resultados abajo se dan estrictamente por propósitos de orientación solamente. El análisis solamente se debe usar interpretaciones CRUDOS de espectrofotómetro que fueron obtenidos sin la sustracción automática de agua o reactivos en blanco.

Cálculo del Control Positivo: Calcule los valores del Control Positivo ZIKV IgM con Zika Ag, CCA, y NCA como sigue:

Ejemplo: Control Positivo ZIKV IgM

OD₄₅₀

	Zika Ag	CCA	NCA
Replicado 1	1.121	0.160	0.121
Replicado 2	1.205	0.152	0.105
Suma	2.326	0.312	0.226

$$\text{Zika Ag Promedio} = 2.326 \div 2 = 1.163$$

$$\text{CCA Promedio} = 0.312 \div 2 = 0.156$$

$$\text{NCA Promedio} = 0.226 \div 2 = 0.113$$

Utilice los valores de promedio para realizar los siguientes cálculos:

Calcule la Tasa de Zika Ag/CCA (Zika ISR) = Zika Ag + CCA:

$$1.163 + 0.156 = \underline{7.46}$$

Cálculo del Control Negativo: Calcule los valores de promedio del Control Negativo ZIKV IgM con Zika Ag, CCA, y NCA como sigue:

Ejemplo: Control Negativo ZIKV IgM

	OD ₄₅₀		
	<u>Zika Ag</u>	<u>CCA</u>	<u>NCA</u>
Replicado 1	0.076	0.065	0.054
Replicado 2	0.071	0.073	0.068
Suma	0.147	0.138	0.122

$$\text{Zika Ag Promedio} = 0.147 \div 2 = 0.074$$

$$\text{CCA Promedio} = 0.138 \div 2 = 0.069$$

$$\text{NCA Promedio} = 0.122 \div 2 = 0.061$$

Utilice los valores de promedio para realizar los siguientes cálculos:

Calcule la Tasa de Zika Ag/CCA (Zika ISR) = Zika Ag + CCA:

$$0.074 + 0.069 = \underline{1.07}$$

Calcule la Tasa de CCA/NCA = CCA + NCA:

$$0.069 + 0.061 = \underline{1.13}$$

Cálculo del Límite OD₄₅₀ de Zika Ag: Calcule un límite crudo de OD₄₅₀. Las muestras deben tener valores de OD₄₅₀ de Zika Ag igual a o más que este límite para poder considerarse positivas para anticuerpos Zika IgM.

Ejemplo: Límite OD₄₅₀ de Zika Ag

El Límite OD₄₅₀ de Zika Ag es igual al OD₄₅₀ promedio de Zika Ag obtenido con la muestra del Control Negativo + 0.130.

Es decir,

$$\text{Límite OD}_{450} \text{ de Zika Ag} = 0.130 + \text{OD}_{450} \text{ promedio de Zika Ag del Control Negativo}$$

En el ejemplo de arriba, el OD₄₅₀ promedio de Zika Ag del Control Negativo = 0.074

Por ende, en este caso:

$$\text{Límite OD}_{450} \text{ de Zika Ag} = 0.130 + 0.074 = \underline{0.204}$$

CRITERIOS DE QC

Los valores en la tabla de abajo deben obtenerse para poder reportar los resultados del ensayo. Incumplimiento de estos criterios es una indicación de deterioración de los reactivos o un error en el procedimiento de prueba y el ensayo debe repetirse.

Factor (Para verificación del ensayo)	Criterios Aceptables
OD ₄₅₀ Promedio del Control Positivo con Antígeno Zika	> 0.500
Tasa de Estado Inmune (Zika ISR) del Control Positivo Zika	≥ 4.00
OD ₄₅₀ Promedio del Control Negativo con Antígeno Zika, CCA, y NCA	< 0.120
OD ₄₅₀ Promedio del Control Negativo con Antígeno Zika	> 0.030
Tasa de Estado Inmune (Zika ISR) del Control Negativo Zika	< 2.00
Tasa de CCA/NCA del Control Negativo	< 2.00

Tome nota del requerimiento estricto que el OD₄₅₀ Promedio del Control Negativo con Antígeno Zika esté entre 0.030 – 0.120. Este rango aceptable para el Control Negativo indica que el *Límite OD₄₅₀ de Zika Ag* debe estar entre 0.160 – 0.250 (*Límite OD₄₅₀ de Zika Ag = 0.13 + OD₄₅₀ de Zika Ag del Control Negativo*).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El kit de ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA proporciona controles críticos para ayudar en la discriminación entre esas muestras que tengan anticuerpos IgM al virus Zika y esas muestras que puedan tener anticuerpos IgM que se enfoquen en un flavivirus relacionado.

ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA clasifica una muestra en tres categorías posibles:

- 1) Reactivo para Anticuerpos Zika IgM
- 2) Reactivo para Anticuerpos IgM de Otro Flavivirus
- 3) Negativo

Para claridad, proporcionamos definiciones de términos relevantes abajo:

DEFINICIONES

OD₄₅₀ de Zika Ag: Esto es el valor crudo de OD₄₅₀ obtenido con una muestra utilizando el Antígeno Zika.

OD₄₅₀ de CCA: Esto es el valor crudo de OD₄₅₀ obtenido con una muestra utilizando el Antígeno de Control de Reactividad Cruzada (CCA).

OD₄₅₀ de NCA: Esto es el valor crudo de OD₄₅₀ obtenido con una muestra utilizando el Antígeno Normal de Célula (NCA).

Zika ISR: Esta es la tasa del OD₄₅₀ Zika Ag al OD₄₅₀ CCA. Es decir, Zika ISR = OD₄₅₀ Zika Ag ÷ OD₄₅₀ CCA.

Tasa CCA/NCA: Esto es la tasa del OD₄₅₀ CCA al OD₄₅₀ NCA. Es decir, OD₄₅₀ CCA ÷ OD₄₅₀ NCA.

Límite OD₄₅₀ Zika Ag: Esto es igual a 0.130 + el valor promedio de OD₄₅₀ del Control Negativo con el Antígeno Zika.

La interpretación adecuada de los datos de las muestras incluye los pasos siguientes:

- (1) Asegúrese de cumplir con los Criterios de QC.
- (2) Determine el Límite OD_{450} Zika Ag.
- (3) Calcule el valor de Zika ISR y tasa CCA / NCA para cada muestra.
- (4) Si la muestra tiene un OD_{450} Zika Ag \geq Límite OD_{450} Zika Ag \underline{Y} un valor de Zika ISR \geq 1.90, entonces la muestra se considera **Positiva Presuntiva para Zika** y la interpretación se ha completado para esta muestra.
- (5) Si la muestra tiene un OD_{450} Zika Ag \geq Límite OD_{450} Zika Ag \underline{Y} $1.50 \leq$ Zika ISR \leq 1.90, entonces la muestra debe reanalizarse en duplicado. El valor promedio de reanálisis (OD, Zika ISR, y tasa de CCA / NCA) debe entonces considerarse como el valor final. Al reanalizarse, si la muestra tiene un OD_{450} Zika Ag \geq Límite OD_{450} Zika Ag \underline{Y} un valor de Zika ISR \geq 1.70, entonces la muestra se considera **Positiva Presuntiva para Zika** y la interpretación se ha completado para esta muestra. Si la muestra tiene un OD_{450} Zika Ag $<$ Límite OD_{450} Zika Ag \underline{O} el valor de Zika ISR $<$ 1.70 al reanalizarse, proceda con pasos (6) y (7) para más análisis.
- (6) Si la muestra NO es Positiva Presuntiva para Zika, evalúe la tasa CCA / NCA. Si la tasa CCA / NCA es \geq 5.00, entonces la muestra se considera **Positiva Presuntiva para Otro Flavivirus (no Zika)** y la interpretación se ha completado para esta muestra.
- (7) De otra manera (si la muestra NO es ni Positiva Presuntiva para Zika ni Positiva Presuntiva para Otro Flavivirus (no Zika)), la muestra se considera **Negativa**. Se recomienda que resultados negativos con muestras cuyos OD Zika Ag son \geq Límite OD_{450} Zika Ag \underline{Y} que tienen valores moderados a altos para CCA (valores OD_{450} de 0.150 – 0.600) sean sometidos a análisis más profundo.

Fuente: Inbios. ZKM2-1 ZIKV Detect™ 2.0 IgM Capture ELISA IVD Inset.2019.
Disponible en <http://inbios.com/wp-content/uploads/2019/08/LBL-0105-00-ZIKV-Detect-2.0-IgM-Capture-ELISA-Package-Insert-FDA-IVD-SPANISH>.

Anexo 5. Inserto de una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG e IgM) contra el virus del Zika.

ADVIN
BIOTECH

Casete de prueba rápida IgG/IgM Ab del virus del Zika
(sangre entera/suero/plasma)

Ficha Técnica
REF: IZGM-C42 **Español**

Una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG e IgM) contra el virus del Zika en sangre total, suero o plasma.

USO PREVISTO
Este casete de prueba rápida IgG/IgM Ab del virus del Zika (sangre entera/suero/plasma) es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del Zika en sangre completa, suero o plasma humano como ayuda en el diagnóstico de infecciones por el virus del Zika.

RESUMEN
El virus del Zika (ZIKV) es un flavivirus transmitido por mosquitos que se aisló por primera vez de un mono rhesus en el Bosque de Zika de Uganda en 1947 [1]. En 1968, se produjo el aislamiento de huéspedes humanos en anticuerpos de residentes en humanos de una región de países de África y partes de Asia. En 2015, el ZIKV apareció por primera vez fuera de África y Asia cuando se aisló en Brasil, donde provocó un brote menor tras la Copa Mundial de la FIFA 2014 [1]. El ZIKV está estrechamente relacionado con otros flavivirus transmitidos por mosquitos, como los virus del dengue, la fiebre amarilla, el Nilo Occidental y la encefalitis japonesa. El ZIKV causa una enfermedad conocida como fiebre Zika, que se caracteriza por una erupción maculopapular que cubre el cuerpo, fiebre, dolor en las articulaciones y malestar general [2] [3]. Aunque todavía no se han producido casos de enfermedades graves causadas por el ZIKV en todo el mundo, el ciclo de transmisión impulsado por mosquitos y la posible propagación a través del contacto sexual hacen del ZIKV un importante patógeno emergente cuyo impacto global aún no se ha descubierto. El diagnóstico de infección por ZIKV incluye pruebas de PCR para detectar ADN viral, así como pruebas adicionales para detectar anticuerpos contra ZIKV (IgM) en suero. La IgM para el ZIKV suele detectarse antes que la IgG, pero es posible que exista reactividad cruzada con los virus del dengue, la fiebre amarilla, la encefalitis japonesa y los virus del Nilo Occidental estrechamente relacionados. Estos resultados de reacción cruzada fueron más comunes en pacientes que indicaban signos de infección previa por flavivirus que en pacientes con infección primaria por ZIKV. Para mejores prácticas de diagnóstico, las muestras de suero deben analizarse lo antes posible con una segunda prueba 2 a 3 días.

El casete de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre total / suero / plasma) es una prueba rápida que utiliza una combinación de partículas coloridas recubiertas con antígeno del Zika para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra el ZIKV en sangre completa, suero o plasma.

PRINCIPIO
El casete de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre completa/suero/plasma) es un inmunoensayo basado en membranas para la detección de anticuerpos contra el Zika en sangre total, suero o plasma. Esta prueba consta de dos componentes, un componente IgG y un componente IgM. En el componente de IgG, la IgG anti-humana se recubre en la región de la línea de prueba de IgG. Durante la prueba, la muestra reacciona con partículas recubiertas de antígeno Zika en el casete de prueba. Luego, la mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar y reacciona con el anti-IgG humano en la región de la línea de prueba de IgG. Si la muestra contiene anticuerpos IgG contra el Zika, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG. En el componente IgM, la IgM anti-humana está recubierta en la región de la línea de prueba de IgM. Durante la prueba, la muestra reacciona con IgM anti-humana. Los anticuerpos IgM contra el Zika, si están presentes en la muestra, reaccionan con las partículas recubiertas de antígeno anti-IgM humano y Zika en el casete de prueba, y este complejo es capturado por el IgM anti-humano, formando una línea de color en la región de la línea de prueba de IgM.

Por lo tanto, si la muestra contiene anticuerpos IgG contra el Zika, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG. Si la muestra contiene anticuerpos IgM contra el Zika, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgM. Si la muestra no contiene anticuerpos contra el Zika, no aparecerá ninguna línea de color en ninguna de las regiones de la línea de prueba, lo que indica un resultado negativo. Para servir como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

REACTIVOS
El casete de prueba contiene partículas de oro coloidal conjugadas con antígeno Zika e IgM anti-humano anti-IgG humana recubierta en la membrana.

PRECAUCIONES
Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
Para un objetivo:
• No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
• Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los riesgos microbiológicos durante todo el procedimiento y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
• Las pruebas usadas, los materiales y el material potencialmente contaminado deben desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
• Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
• La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.
• El kit puede almacenarse a temperatura ambiente o refrigerarse (2-30 ° C). El casete de prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada. El casete de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No lo use después de la fecha de vencimiento.

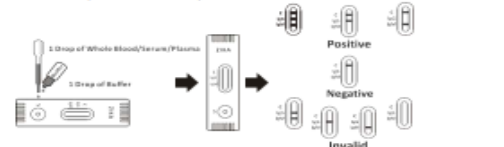
RECOPIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS
El casete de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre entera / suero / plasma) se puede realizar utilizando sangre completa, suero o plasma.
• Para recolectar muestras de sangre entera por punción digital:
• Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón o límpiela con un hisopo con alcohol. Deje secar.
• Masaje la mano sin tocar el lugar de la punción tratando la mano hacia la punta del dedo medio o anular.
• Perfore la piel con una lanceta esterilizada. Limpie el primer signo de sangre.
• Frota suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma y el dedo para formar una gota de sangre redondeada sobre el lugar de la punción.
• Agregue la muestra de sangre total por punción digital al casete de prueba utilizando un gotero o una micropipeta de 40 µl. El gotero proporcionado con la prueba dispensa aproximadamente 40 µl en una gota incluso si se aspira más sangre en el gotero.
• Separe el suero o el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo claro, espécimen no hemolizado.
• La prueba debe realizarse inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje el

muestra a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma deben almacenarse 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 punción debe almacenarse a 2-8 ° C si la prueba debe ejecutarse dentro de los 2 días posteriores a la recolección. No congele muestras de sangre entera. La sangre entera recolectada por punción digital debe analizarse inmediatamente.

• Lleve las muestras a 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.
• Si las muestras deben enviarse, deben empacarse de acuerdo con las regulaciones federales para el transporte de agentes biológicos.

- Materiales proporcionados**
• Goteros
• Buffer
• Recipientes de recogida de muestras
• Lancetas (solo para sangre total por punción digital)
- Materiales requeridos pero no proporcionados**
• Centífuga (solo para-plasma)
• Micropipeta
• Temporizador

INSTRUCCIONES DE USO
Antes de la prueba, la muestra, el tampón y / o los controles alcanzan la temperatura ambiente (15-30 ° C)
1. Deje que la bolsa alcance la temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y utilícelo dentro de una hora.
2. Coloque el casete de prueba en una superficie limpia y nivelada.
Para usar un gotero o una micropipeta: Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 1 gota de suero / plasma (aproximadamente 40 µl) al círculo de recolección de muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de tampón (aproximadamente 40 µl) y comience el temporizador.
3. Espere que aparezca una línea de color. El resultado de la prueba debe leerse a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS
(Consulte la ilustración anterior)
POSITIVO IgG e IgM: Aparecen tres líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y dos líneas de color deben aparecer en la región de la línea de prueba de IgG y la región de la línea de prueba de IgM. Las intensidades de color de las líneas no tienen por qué coincidir. El resultado es positivo para anticuerpos IgG e IgM y es indicativo de una infección secundaria por Zika.
IgG POSITIVO: Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y aparece una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG. El resultado es positivo para los anticuerpos IgG específicos del virus del Zika y probablemente sea indicativo de una infección secundaria por el virus del Zika.
IgM POSITIVO: Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y una línea de color aparece en la región de la línea de prueba de IgM. El resultado es positivo para los anticuerpos IgM específicos del virus del Zika y es indicativo de una infección primaria por el virus del Zika.
NOTA: La intensidad del color en las regiones de la línea de prueba de IgG y / o IgM variará según la concentración de anticuerpos contra el Zika en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en las regiones de la línea de prueba de IgG / o IgM debe considerarse positivo.
NEGATIVO: Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en las regiones de la línea de prueba de IgG e IgM.
NO VÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de buffer insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falta de la línea de control. Revise el procedimiento y repítelo con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD
Se incluye un control de procedimiento interno en la prueba. Una línea de color que aparece en la línea de control, región es un control de procedimiento válido interno, que confirma la absorción de membrana adecuada. Los estándares de control no se suministran con este kit sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el desempeño adecuado de la prueba.
LIMITACIONES
1. El casete de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre completa / suero / plasma) es para uso in vitro diagnóstico solamente. La prueba debe usarse para la detección de anticuerpos contra el virus ZIKA en muestras de sangre total, suero o plasma únicamente. Esta prueba cualitativa no puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de anticuerpos contra el virus ZIKA.
2. El casete de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre total / suero / plasma) solo indicará la presencia de anticuerpos contra el virus ZIKA en la muestra y no debe usarse como el único criterio para el diagnóstico del virus ZIKA.
3. La presencia o ausencia continua de anticuerpos no puede utilizarse para determinar el éxito o el fracaso de la terapia.
4. Los resultados de pacientes inmunosuprimidos deben interpretarse con precaución.
5. Como ocurre con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
6. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales con otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye en ningún momento la posibilidad de infección por el virus ZIKA.

【CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN】
Sensibilidad y especificidad
El casete de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre total / suero / plasma) se evaluó con muestras obtenidas de una población de individuos sintomáticos y asintomáticos. Los resultados fueron confirmados por una prueba ELISA comercial líder contra el Zika.
Infección por el virus del Zika para los resultados de las pruebas de IgM / IgG

Método	ELISA		
	Positivo	IgG	Negativo
Casete de prueba rápida de Zika (sangre total / suero / plasma)	Positivo	10	0
	Negativo	0	0
Sensibilidad relativa		91%	95%
Infección no Zika para los resultados de las pruebas de IgM / IgG		0	0
Casete de prueba rápida de Zika (sangre total / suero / plasma)	Positivo	0	0
	Negativo	0	170
Sensibilidad relativa		0%	99.4%

Sensibilidad relativa: (10 + 19) / (11 + 20) = 90.9% (95% CI = 78.2% - 99.2%)
Especificidad relativa: 170/171 = 99.4% (95% CI = 96.8% - 100.0%)
Precisión: (10 + 19 + 170) / (11 + 20 + 171) = 98.5% (95% CI = 95.7% - 99.7%)
Intervalos de confianza
Reactividad cruzada
El casete de prueba rápida IgG / IgM Ab del virus del Zika (sangre total / suero / plasma) ha sido probado por HAMA, RF, HbAb, HSAAb, HSAIg, HSAIgG, anti-Syphilis, anti-HIV, anti HCV, anti-H. pylori, MONO, anti-CMV, Dengue IgG, Dengue IgM, muestras positivas anti-Rubéola y anti-TOXO. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.
Sustancias que interfieren
Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras negativas de Zika.

- Acetaminofén: 20 mg / dL Ácido acetilsalicílico: 20 mg / dL Ácido ascórbico: 2g / dL
Bilirrubina: 1g / dL Creatinina: 200 mg / dL Cafeína: 20 mg / dL
Ácido gástrico: 20 mg / dL Albúmina: 2 g / dL Hemoglobina 1000 mg / dL
Ácido oxálico: 60 mg / dL
Ninguna de las sustancias a la concentración probada interfirió en el ensayo.

【BIBLIOGRAFÍA】
1. Hayes EB (2009) Zika virus outside Africa. Emerg Infect Dis 15: 1347-1350.
2. Simonsen DJ (1964) Zika virus infection in man. Trans R Soc Trop Med Hyg 58:335-338.
3. Bearcroft WG (1956) Zika virus infection experimentally induced in a human volunteer. Trans R Soc Trop Med Hyg 50: 442-448.



Fuente: Biotech. Casete de prueba rápida IgG/IgM Ab del virus del Zika.2019.Disponible en <https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2021/03/Inserto-Advin-Zika-IgG-IgM-IZGM-C42.pdf>



Instrucciones de uso

RealStar[®]

Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

01/2017 ES

RealStar[®]

1. Uso indicado

El RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico del virus del Zika (ZIKV) en suero o orina humanos.

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® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 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 alta 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 alcuotas 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 del Zika es un virus ARN monocatenario (+) encapsulado de la familia *Flaviviridae*. Como muchos otros miembros de dicha familia, se transmite principalmente por la picadura de mosquitos del género *Aedes*. En 1947, se aisló el virus de un mono rhesus en Uganda por primera vez. El primer caso humano de infección por el virus del Zika se detectó en 1968 en Nigeria. Inicialmente, la evidencia de infecciones por el virus del Zika solo se encontraba en pacientes de África y del Sudeste Asiático. En 2007, se produjo un gran brote del virus provocó en Micronesia y otras islas del Océano Pacífico. La Polinesia Francesa, las Islas de Pascua y las Islas Cook se vieron afectadas en 2013. Desde 2015, el virus también es endémico en Sudamérica, sobre todo en Brasil, donde desde entonces se han registrado numerosos presuntos casos. La fiebre, el sarpullido y la artralgia son síntomas y signos habituales de infecciones por el virus del Zika que, en cualquier caso, suelen ser leves y autolimitados.

Como los virus del Zika, del dengue y del chikunguña son endémicos en las mismas regiones geográficas y provocan síntomas similares, la identificación definitiva del agente etiológico solo es posible con productos de laboratorio. La detección del virus del Zika mediante RT-PCR en tiempo real debe realizarse de manera precoz (hasta 10 días) desde el inicio de la enfermedad. Los productos de valoración con anticuerpos muestran reacciones cruzadas con flavivirus similares, y la detección de anticuerpos neutralizantes mediante pruebas de valoración de reducción de placas presenta problemas y solo puede realizarse en laboratorios especializados.

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® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección cualitativa del ARN específico del virus del Zika (ZIKV). 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 ZIKV 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 ZIKV 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® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 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 ZIKV, y el Control interno en una configuración de reacción.

6.1 Instrumentos de PCR en tiempo real

El RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 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 translade 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.

8. Procedimiento

8.1 Preparación de las muestras

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. El siguiente kit se ha validado en combinación con el RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 para la extracción de ácido nucleico:

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)
 - Cat. No. 52904 for 50 extractions
 - Cat. No. 52906 for 250 extractions

La extracción del ARN utilizando el QIAamp® Viral RNA Mini Kit debe realizarse conforme a las instrucciones del fabricante utilizando 140 µl de muestra como material inicial. Para la elución del ARN extraído, deben utilizarse 60 µl de tampón AVE.

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® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 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® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 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.
- ▶ El Control interno **no debe** añadirse directamente a la muestra. El Control interno debe añadirse siempre a la mezcla de muestra o 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, al utilizar el QIAamp® Viral RNA Mini Kit, el ARN con un volumen de elución de 60 µl de tampón AVE, deben añadirse 6 µl de Control interno por muestra a la mezcla de muestra o 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.



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 centrífuga 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® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 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	ROX™

9.2 Detectores de fluorescencia

- Defina los detectores de fluorescencia (colorantes):

Objetivo	Nombre de detector	Reporter	Quencher
ARN específico de ZIKV	ZIKV	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 Repeticiones	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® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 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.

Fuente: Altona. RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.2017. Disponible en https://www.altona-diagnostics.com/files/public/Content%20Homepage/-%202002%20RealStar/MAN%20-%20CE%20-%20ES/RealStar%20Zika%20RT-PCR%20Kit%201.0_WEB_CE_ES-S01.pdf

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 ZIKV.
-	+	No se ha detectado ARN específico de ZIKV. La muestra no contiene cantidades detectables de ARN específico de ZIKV.
-	-	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 ZIKV en la muestra puede provocar señales reducidas o ausentes de Control interno.