

Prueba rápida DENGUE IgG-IgM

(sangre/suero/plasma)

DGM 0923/01

REF DMDEN02

Uso deseado

La prueba rápida DENGUE IgG-IgM (sangre/suero/plasma humano) es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM anti-Dengue en sangre, suero o plasma humano para ayudar en la identificación de infecciones por dengue.

Resumen

Transmitido por artrópodos, en especial por el mosquito urbano *Aedes aegypti*, el Dengue es una enfermedad causada por el flavivirus DENV, el cual, una vez transmitido por la picadura del mosquito, ingresa por endocitosis en las células y busca replicarse en el citoplasma, si bien, se sabe que este virus genera alrededor de 10 proteínas aún no se conoce con exactitud la función específica de las mismas, pues solo tres de ellas son estructurales [1,2]. Debido a la falta de información sobre la replicación de este virus es que aún no existen retrovirales que puedan inhibir su replicación, solamente existe un tratamiento que consiste en la infusión intravenosa precoz de soluciones cristaloides, sin embargo, este tratamiento reduce la mortandad de la enfermedad, de allí surge la importancia de detectar la presencia de este virus en etapas tempranas. Los síntomas que se pueden presentar son fiebre, inflamación de determinados tejidos, dolor general y fatiga, parte de la gravedad de la enfermedad son las complicaciones súbitas que pueden sufrir los individuos infectados. Se estima que anualmente son infectadas entre 50 y 100 millones de personas solo el continente americano [3]. Un diagnóstico temprano permitiría un manejo clínico eficiente con el fin de curar o prevenir complicaciones potencialmente mortales. Hoy en día se dispone de una amplia gama de métodos de diagnóstico serológicos y virológicos como lo son ELISA o el PCR, sin embargo, requieren de personal especializado y equipos de laboratorio no aptos para un diagnóstico rápido. Las pruebas serológicas incluyen la detección de anticuerpos anti-dengue (IgG/IgM), los anticuerpos IgM generalmente persisten durante 30 a 90 días. La mayoría de los pacientes con dengue en regiones endémicas tienen infecciones secundarias, lo que resulta en altos niveles de anticuerpos IgG antes o simultáneamente con la respuesta de IgM. Un test positivo a IgM e IgG indica una infección reciente por Dengue, mientras que, si el IgG es positivo, pero si el IgM es bajo o negativo, indica que el paciente tuvo una infección en el pasado [4,5 y 6].

Principio

La prueba rápida DENGUE-NET (sangre/suero/plasma humano) es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección de anticuerpos IgM e IgG anti-Dengue en muestras de sangre, suero o plasma. Esta prueba tiene una zona IgG y una zona IgM, las cuales se recubren con anticuerpos de tipo IgG e IgM anti-humano respectivamente, se denominan línea de prueba de IgG e IgM, también cuenta con un conjugado de nanopartículas revestidas con antígenos de Dengue. Durante la prueba, la muestra reacciona con partículas revestidas con antígenos de Dengue en el cartucho de prueba, formando un complejo el cual migra por acción capilar sobre la membrana y reacciona con el IgG e IgM anti-humano en la región de las líneas de prueba. Si la muestra contiene anticuerpos IgG y/o IgM contra el Dengue, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba según corresponda. Por lo tanto, si la muestra contiene anticuerpos IgG contra Dengue, se aparecen en la región de la línea de prueba de IgG. Si la muestra contiene anticuerpos IgM contra Dengue, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba IgM. Si la muestra no contiene anticuerpos contra Dengue, no aparecerá ninguna línea coloreada en alguna de las regiones de la línea de prueba, lo que indica un resultado negativo.

Para servir como control del procedimiento, siempre aparecerá una línea coloreada en la región de la línea control (C), indicando que se ha añadido el volumen apropiado de muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

Reactivos

La prueba rápida de dengue IgG/IgM contiene nanopartículas conjugadas con antígeno de dengue, así como anticuerpos IgM anti-humano e IgG anti-humano impresos sobre la membrana.

Precauciones

Lea toda la información contenida en este prospecto antes de realizar la prueba.

- Exclusivo para uso *in vitro*.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No fume, beba o coma en áreas donde se manipulen las muestras o las pruebas.
- Maneje todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- Tome las precauciones establecidas contra posibles riesgos microbiológicos en todos los procedimientos y siga la norma de procedimientos para la eliminación adecuada de muestras.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo a las normativas locales.
- No mezcle/cambie la solución de corrimiento o cartuchos de kits proveniente de lotes diferentes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

Almacene la prueba en la bolsa sellada, a temperatura ambiente o refrigerado (2 -30 °C). Nota: NO CONGEELE LA PRUEBA.

- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada.
- La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.

Almacenamiento de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma pueden almacenarse a 2-8°C máximo 3 días.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de los -20°C. Solo la sangre obtenida por punción venosa deberá almacenarse a 2-8°C y tendrá que ser utilizada en un plazo de 2 días a partir de la recolección.

- No congele las muestras de sangre.
- Separe el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Utilice sólo muestras claras no hemolizadas.
- Muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y mezcladas antes de su uso.
- Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.

Materiales

Materiales incluidos:

- Cartucho de prueba
- Gotero
- Solución de corrimiento
- Manual de instrucciones

Materiales opcionales:

- Centrifuga
- Sistema para toma de muestra por venopunción
- Micropipeta

Materiales requeridos, pero no incluidos:

- Lanceta (punción capilar)
- Almohadilla con alcohol
- Temporizador

Preparación y recolección de muestra

El cartucho de prueba rápida de Dengue puede utilizarse con sangre (obtenida por medio de punción capilar o venopunción), suero o plasma.

Siga las instrucciones descritas a continuación según el medio de obtención y muestra:

Por punción capilar:

- A. Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón, después séquela con una toalla limpia.
- B. Masajea la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia la yema del dedo anular o medio.
- C. Perfere la piel con una lanceta estéril y limpie la primera señal de sangre.
- D. Frote suavemente la mano desde la palma hasta la yema de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
- E. Presione el bulbo del gotero y coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra, suelte el bulbo hasta llenar la punta del gotero. Evite generar burbujas de aire.

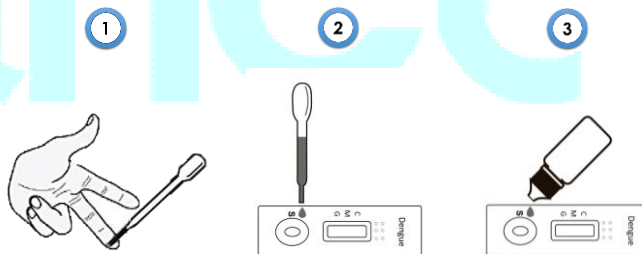
Por Venopunción:

- a. Tome la muestra de acuerdo a los criterios establecidos para la correcta toma de muestra por venopunción.
- b. Separe el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Sólo utilice muestras claras, evite muestras hemolizadas.

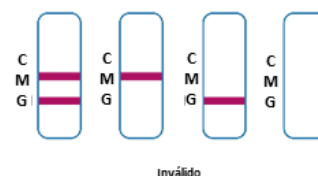
Instrucciones de uso

Permita que el cartucho de prueba, muestra y solución de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de su uso.

1. Recolecte la muestra (sangre/suero/plasma), como se menciona anteriormente.
2. Coloque 2 gotas de muestra (aproximadamente 30 µL).
3. Agregue 3 gotas de solución de corrimiento (aproximadamente 120 µL).
4. Interprete resultados a los 15 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



Interpretación de los resultados



(Refiera por favor al ejemplo anterior)

IgG e IgM POSITIVO: Aparecen tres líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otras dos líneas de color deben estar en la región de la línea de prueba de G e M. No es necesario que la intensidad del color de las líneas coincida. El resultado es positivo para los anticuerpos IgG e IgM indicados en la etapa final de la infección primaria del dengue y la etapa temprana de la infección secundaria del dengue.

POSITIVO (IgM): Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de prueba (IgM). El resultado es positivo para los anticuerpos IgM específicos para el virus del dengue y es indicativo de infección por dengue.

POSITIVO (IgG): Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de prueba (IgG). El resultado indica una probable infección secundaria por dengue.

NOTA: La intensidad del color en la región de las líneas de prueba (IgG y/o IgM) variará dependiendo de la concentración de anticuerpos presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de la línea de prueba debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (IgG y/o IgM).

INVALIDO: La línea de control no aparece. El volumen de la muestra es insuficiente o las técnicas de procedimiento fueron incorrectas, estás suelen ser las razones más probables de la falla. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo cartucho. Si el problema persiste, deje de usar el cartucho de prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control de procedimiento interno se incluye en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de línea de control (C) es un control interno de procedimiento válido, que confirma que el volumen de la muestra fue suficiente y las técnicas del procedimiento de realización fueron correctas. Nota: No se suministran controles positivos ni negativos. Para ello se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

Limitaciones

1. La prueba rápida de Dengue IgG-IgM (sangre/suero/plasma humano) sólo indican la presencia de anticuerpos contra el dengue presentes en la muestra y no deben utilizarse como único criterio para el diagnóstico de Dengue.
2. Se recomienda que el hematocrito de las muestras se encuentre entre 25 a 65%.
3. Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben interpretarse conjuntamente con otros procedimientos diagnósticos y hallazgos clínicos.
4. En el inicio de la infección, las concentraciones de IgM anti-dengue pueden estar por debajo de los niveles detectables.
5. Para la infección secundaria, una fracción baja de IgM anti-Dengue y una fracción alta de IgG que es ampliamente reactiva a los flavivirus se presenta. La señal de IgM puede ser débil y la reacción cruzada en la región de la línea de IgG puede aparecer.
6. La reactividad cruzada serológica en el grupo de flavivirus (Dengue 1, 2, 3 y 4 encefalitis de San Luis, virus del Nilo Occidental, encefalitis japonesa y el virus de fiebre amarilla) es común. Los resultados positivos deben ser confirmados por otros medios.
7. La presencia o ausencia continua de anticuerpos no determina el éxito o el fracaso de la terapia.
8. Los resultados de pacientes inmunosuprimidos deben ser interpretados con precaución.
9. Como con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben ser interpretados junto con otra información clínica disponible para el médico.

Valores esperados

La prueba rápida Dengue IgG-IgM (sangre/suero/plasma humano) ha sido comparado con una prueba comercial líder en Dengue ELISA, demostrando una sensibilidad del 83.3% para la IgM en la infección primaria y 98.4% para la IgG en la infección secundaria. La infección primaria por dengue se caracteriza por la presencia de anticuerpos IgM detectables a los 3-5 días después de la aparición de la infección. La infección secundaria por dengue es caracterizada por la elevación de IgG específica al dengue, en la mayoría de los casos, esto se acompaña de niveles elevados de IgM.

Características de presentación

Sensibilidad y Especificidad

La prueba rápida Dengue IgG-IgM (sangre/suero/plasma humano) se ha evaluado con muestras obtenidas de una población de pacientes sintomáticos y asintomáticos. Los resultados de anticuerpos fueron confirmados por una prueba comercial de Dengue ELISA para IgG e IgM.

Infección primaria por dengue

Método	Dengue Ab ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE IgG-IgM Línea IgG	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	0	1
	Negativo	0	28
Resultados Totales		0	29
Método	Dengue Ab ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE IgG-IgM Línea IgM	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	28	0
	Negativo	1	0
Resultados Totales		29	0
Sensibilidad relativa IgM		96.55 %	

Infección secundaria por Dengue

Método	Dengue Ab ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE IgG-IgM Línea IgG	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	57	0
	Negativo	2	0
Resultados Totales		59	0
Método	Dengue Ab ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE IgG-IgM Línea IgM	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	20	1
	Negativo	1	37
Resultados Totales		21	38
Sensibilidad relativa IgG		96.55 %	
Sensibilidad relativa IgM		95.24 %	

Infección negativa a Dengue

Método	Dengue Ab ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE IgG-IgM Línea IgG	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	0	1
	Negativo	0	291
Resultados Totales		0	292
Método	Dengue Ab ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE IgG-IgM Línea IgM	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	0	2
	Negativo	0	290
Resultados Totales		0	292
Especificidad relativa IgG		99.66 %	
Especificidad relativa IgM		99.32 %	

Sensibilidad: 97.70% (95% IC: 95.65% - 98.80%)
Especificidad: 98.97% (95% IC: 97.36% - 99.60%)
Precisión: 98.94% (95% IC: 97.31% - 99.59%)
IC: Intervalos de confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La precisión intra-ensayo se determinó usando 20 réplicas de cinco muestras: un negativo, un positivo bajo IgG, un positivo alto IgG, un positivo bajo IgM y un positivo alto IgM. Todas las muestras fueron correctamente identificadas > 99% de las veces.

Inter-Ensayo

La precisión inter-ensayo se determinó usando 20 réplicas de cinco muestras: un negativo, un positivo bajo IgG, un positivo alto IgG, un positivo bajo IgM y un positivo alto IgM. Se analizaron tres lotes diferentes de esta prueba. Las muestras fueron correctamente identificadas > 99% del tiempo.

Reactividad cruzada

La prueba rápida DENGUE IgG-IgM (sangre/suero/plasma humano) ha sido probada con muestras positivas a HAMA, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, sífilis, VIH, *H. Pylori*, MONO, CVM, rubéola y TOXO. Los resultados no mostraron ninguna reactividad cruzada.

Interferencia

La prueba rápida DENGUE IgG-IgM (sangre/suero/plasma humano) fue probada con diez muestras positivas y diez muestras negativas enriquecidas con Acetaminofén, Ácido Acetilalicólico, Ácido Ascórbico, Bilirrubina, Creatina, Cafeína, Ácido Géntisico, Hemoglobina, Albúmina y Ácido oxálico, no presento ninguna interferencia.

Referencias

- [1]. Velandia, M. L., & Castellanos, J. E. (2011). Virus del dengue: estructura y ciclo viral. *Infección*, 15(1), 33-43.
- [2]. Martínez Torres, E. (2008). Dengue. *Estudios avanzados*, 22, 33-52.
- [3]. Schatzmayr HG. Dengue situation in Brazil by year 2000. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95: 1179-81.
- [4]. Ruechusatsawat K, et al. Observación diaria de niveles de anticuerpos entre pacientes con dengue detectados mediante el ensayo inmunoenzimático (ELISA). *Japonés J. Trop. Med. Higiene* 1994; 22: 9-12
- [5]. Chen, X., Chen, R., Gu, W., He, J., Cai, W., Li, J., ... Yan, H. (2015). Clinical evaluation of dengue RNA, NS1, and IgM for diagnosis of dengue in Southern China. *Journal of Medical Virology*, 88(1).
- [6]. Shiv Sekhar Chatterjee, Ankush Sharma, Shilpee Choudhary, Sushil Kumar Chumber, et al. Significance of IgG optical density ratios (index value) in single reactive anti-Dengue virus IgG capture ELISA. *Iranian Journal of Microbiology*. Vol.8 No.6 Dec' 16:395-400

Índice de símbolos

	Consultar manual de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 2 - 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
	Uso para investigación

	Caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	No reutilizar