

MONTEBIO COMBO DENGUE IgG/IgM + NS1 Ag

COD: DEN-W42

USO INDICADO

La prueba rápida Dengue IgG/IgM+ Ag NS1 (sangre entera/suero/plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa del antígeno NS1, Anticuerpos anti-IgG y anticuerpos anti IgM del virus de Dengue en sangre entera, suero o plasma humanos, y sirve como ayuda en el diagnóstico de infección por Dengue primario y secundario.

INTRODUCCION

El virus del Dengue se transmite por el mosquito *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, ampliamente distribuidos a través de áreas tropicales y subtropicales del mundo. Existen cuatro serotipos conocidos (DENV 1, 2, 3 y 4) En niños, la infección es a menudo sub-clínica o con enfermedad febril limitada. Sin embargo, segundas infecciones con otros serotipos pueden desencadenar una enfermedad más severa, fiebre del dengue hemorrágico o síndrome de shock por dengue. El dengue es considerado el más importante de los virus transmitidos por artrópodos debido a la morbilidad y mortalidad que provoca.

NS1 es una glicoproteína altamente conservada que está presente en altas concentraciones en el suero de pacientes infectados por Dengue durante la fase clínica temprana de la enfermedad. El antígeno NS1 se encuentra desde el primer día y hasta 9 días después del comienzo de la fiebre en muestras de pacientes infectados por Dengue primario o secundario.

Usualmente, IgM es indetectable hasta 5 o 10 días luego de la aparición de enfermedad en casos de infección por dengue primaria y hasta 4 o 5 días luego de la aparición de enfermedad en casos de infección por dengue secundaria. En infección primaria el IgG aparece desde el día 14 y persiste de por vida. La infección secundaria muestra que IgG aparece entre 1-2 días luego de la aparición de síntomas e induce una respuesta a IgM luego de 20 días de infección.

El dispositivo de prueba está compuesto por dos tiras: 1) tira para Antígeno NS1, 2) tira para Dengue IgG/IgM. La tira de ANTIGENO NS1 utiliza anticuerpos monoclonales específicos para detectar Antígeno de Dengue NS1, y la tira Dengue IgG/IgM utiliza Antígeno NS1 acoplado con partículas coloreadas y anticuerpo anti IgG/IgM para detectar el virus del Dengue anti-IgG e IgM en sangre entera, suero o plasma humano.

PRINCIPIO

El test rápido combo DENGUE IgG/IgM + NS1 Ag (sangre, suero y plasma) está compuesto por 2 tiras de examen: 1) La tira para dengue NS1 2) la tira para dengue IgG/IgM.

La tira para Dengue NS1 Ag detecta el antígeno NS1 y permite su interpretación visual mediante el desarrollo de color. Los anticuerpos anti-dengue NS1 están inmovilizados en la región de prueba de la membrana. Durante la prueba, si los antígenos NS1 están presentes en la muestra se unirán con los anticuerpos anti-dengue NS1 conjugados con partículas coloreadas en la almohadilla de muestra. Mientras la muestra migra por capilaridad, el complejo será capturado por anticuerpos anti NS1 en la región de prueba. A medida que la muestra migra a lo largo de la tira por acción capilar, interactúa con los reactivos en la membrana, el complejo será capturado por anticuerpos anti NS1 en la región de la prueba. El exceso de partículas de color es capturado en la zona de control interno (C).

La presencia de una banda roja en la región de prueba (T) indica un resultado positivo para los antígenos particulares, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Una banda roja en la región de control (C) sirve como control de procedimiento, lo que indica que se ha agregado un volumen adecuado de la muestra.

La tira de prueba de Dengue IgG/IgM detecta IgG e IgM anti- Dengue virus a través de la interpretación visual del desarrollo del color. Los antígenos del virus del dengue, y los anticuerpos anti-IgG humana y anti-IgM humana se usan para detectar anticuerpos específicos en muestras de sangre, suero o plasma humano. Cuando se agrega una muestra al pocillo de muestra en el panel de prueba, si los anticuerpos IgG e IgM específicos están presentes, se unirán a los antígenos del virus del dengue conjugados

con partículas coloreadas en la almohadilla de muestra. A medida que la muestra migra a lo largo de la tira por acción capilar e interactúa con los reactivos en la membrana, el complejo será capturado por anticuerpos anti- IgG humana y / o anticuerpos anti-IgM humana inmovilizados en la zona de detección. El exceso de partículas de color se captura en la zona de control interno.

La presencia de una o más bandas rojas en la región de prueba indica un resultado positivo para los anticuerpos IgG y / o IgM particulares respectivamente, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Una banda roja en la región de control (C) sirve como control de procedimiento, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de la muestra.

MATERIALES

Materiales suministrados

Caja conteniendo:

- 1 Ficha técnica
- 40 cassetes individualmente envasados
- 40 Pipetas descartables de 5µl para Dengue IgG/IgM
- 40 Pipetas descartables de 25 µl para Dengue NS1
- 1 frasco con Buffer

Material requerido no suministrado

- Contenedor para recolección de muestras
- Centrífuga
- Temporizador
- Lancetas

ADVERTENCIAS

- La prueba, una vez utilizada debe descartarse de acuerdo con las regulaciones locales.
- Para uso profesional in vitro solamente. No utilice el dispositivo luego de su fecha de vencimiento.
- No ingerir alimentos, bebidas o fumar en el área donde se manipulen muestras o reactivos.
- No utilice el test si el envase se encuentra dañado.
- Maneje todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones a tomar en caso de peligros microbiológicos a lo largo del test y siga los procedimientos estándar para el desecho apropiado de las muestras.
- Use ropa de protección como guardapolvo, guantes descartables y protección para la vista cuando manipule muestras que estén siendo examinadas.
- El test debe ser desechado de acuerdo a las regulaciones locales.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El dispositivo debe ser almacenado a 2-30°C hasta la fecha de vencimiento impresa en el sobre sellado.
- El test debe permanecer en su sobre sellado hasta su uso.
- NO CONGELAR
- Se deberá tener especial cuidado para proteger los componentes del test de cualquier riesgo de contaminación. No usar si existiera evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del equipo dispensador, contenedor o reactivo puede llevar a falsos resultados.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- El Dispositivo combo DENGUE IgG/IgM + NS1 Ag está indicado para ser utilizado en sangre entera, suero y plasma humano solamente.
- Se recomienda utilizar solamente muestras claras no hemolizadas con estos tests. El suero o plasma deberá ser separado tan pronto como sea posible para evitar hemólisis.
- Realice el test inmediatamente luego de la recolección de muestra. No deje

muestras a temperatura ambiente por períodos prolongados. Muestras de suero o plasma deberán ser almacenadas a 2-8°C por hasta 3 días. Para almacenamiento a largo plazo deberá mantener las muestras de suero o plasma a -20°C. La sangre recolectada por medio de venipuntura deberá almacenarse a 2-8°C si el test se correrá en los dos días posteriores a la recolección. No congelar muestras de sangre. La sangre recolectada de la yema del dedo debe ser examinada inmediatamente.

- Los contenedores que contienen anticoagulantes como EDTA, citrato o heparina deben ser usados para almacenamiento de sangre.
- Deje que las muestras alcancen temperatura ambiente, previa a la examinación. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y bien mezcladas antes de ser examinadas. Evite re-congelar y descongelar las muestras.
- Si las muestras deben enviarse, envase de acuerdo a las regulaciones de transporte y de agentes etiológicos.
- Suero icterico, lipémico, hemolizado, tratado con calor y contaminado será causa de resultados erróneos.

PROCEDIMIENTO

Permita que el dispositivo de examinación, muestras, búfer y/o controladores alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) previo a su uso.

1. Antes de abrir el sobre, permita que alcance temperatura ambiente. Remueva el dispositivo de examinación del sobre sellado y utilice tan pronto como sea posible.

2. Ubique el dispositivo de examinación en una superficie limpia y nivelada.

Para muestras de suero o plasma:

a) Utilice la pipeta descartable de 25 µl incluida, transfiera una gota de suero o plasma al recipiente para la muestra (S1) y agregue una gota de búfer. Active el temporizador.

b) Utilizando la pipeta descartable de 5µl, ubique la muestra hasta la línea de llenado y transfiera 1 gota de suero/plasma (aproximadamente 5µl) al recipiente para muestra (S2) del dispositivo de examinación, luego agregue 3 gotas de búfer y active el temporizador.

Para muestras de Sangre (venipuntura/yema del dedo)

a) Utilizar la pipeta descartable de 25µl, transfiera 2 gotas de sangre al recipiente para muestra (S1) y agregue 1 gota de búfer. Active el temporizador.


b) Utilizando la pipeta descartable de 5µl, ubique la muestra 0.5-1 cm por sobre la línea de llenado y transfiera 2 gotas de sangre (aprox. 10 µl) al recipiente de la muestra (S2) del dispositivo de examinación y luego agregue 3 gotas de búfer y active el temporizador.


Nota: Las muestras pueden ser aplicadas con una micropipeta.


3. Espere hasta que aparezca la(s) línea(s) de color. Lea los resultados a los 10 minutos. No interprete el resultado hasta 20 minutos después.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

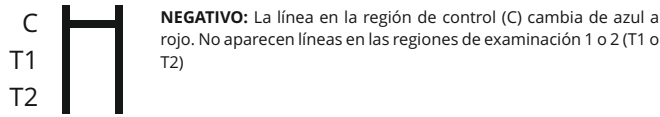
Para Test Dengue IgG/IgM

C  **IgG Positivo:** La línea coloreada en la región de control (C) cambia de azul a rojo, y la línea coloreada aparece en la región de examinación 1 (T1). El resultado es positivo para virus de Dengue específico IgG y sea probablemente indicador de una infección por Dengue secundaria.

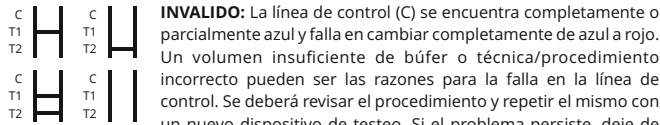
C  **IgM positivo:** La línea coloreada en la región de control (C) cambia de azul a rojo y la línea coloreada aparece en la región 2 de examinación (T2) El resultado es positivo para el virus del Dengue específico de anticuerpos IgM como indicador de una infección por Dengue primaria.

C  **IgG e IgM positivo:** La línea coloreada en la región de control (C) cambia de azul a rojo y dos líneas coloreadas deben aparecer en las regiones de líneas de examinación 1 y 2 (T1 y T2) La intensidad de color en las líneas no debe concordar. El resultado es positivo para anticuerpos IgG e IgM como indicador de una infección por Dengue secundaria.

NOTA: La intensidad del color en la región de examinación (T1 y/o T2) podrá variar dependiendo de la concentración de anticuerpos de Dengue en la muestra. De esta manera, cualquier tono de color en la región de examinación (T1 y/o T2) deberá considerarse positivo.

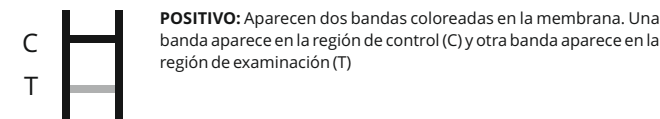


NEGATIVO: La línea en la región de control (C) cambia de azul a rojo. No aparecen líneas en las regiones de examinación 1 o 2 (T1 o T2)

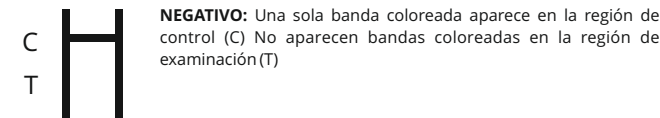


INVALIDO: La línea de control (C) se encuentra completamente o parcialmente azul y falla en cambiar completamente de azul a rojo. Un volumen insuficiente de búfer o técnica/procedimiento incorrecto pueden ser las razones para la falla en la línea de control. Se deberá revisar el procedimiento y repetir el mismo con un nuevo dispositivo de testeo. Si el problema persiste, deje de utilizar es test inmediatamente y contáctese con su distribuidor local.

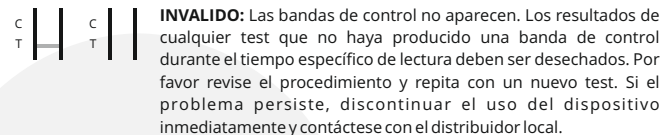
Para Test Dengue NS1 Ag



POSITIVO: Aparecen dos bandas coloreadas en la membrana. Una banda aparece en la región de control (C) y otra banda aparece en la región de examinación (T)



NEGATIVO: Una sola banda coloreada aparece en la región de control (C) No aparecen bandas coloreadas en la región de examinación (T)



INVALIDO: Las bandas de control no aparecen. Los resultados de cualquier test que no haya producido una banda de control durante el tiempo específico de lectura deben ser desechados. Por favor revise el procedimiento y repita con un nuevo test. Si el problema persiste, discontinuar el uso del dispositivo inmediatamente y contáctese con el distribuidor local.

NOTA:

- Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de antígeno de virus de Dengue NS1 Ag presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo o los antígenos que son detectados no están presente durante el estado de la enfermedad en la cual la muestra es recolectada.
- Un resultado negativo no puede excluir una infección reciente.
- La presencia del NS1 Ag del virus del Dengue puede significar positivo para infección temprana de Dengue. Como con todos los test de diagnóstico los resultados deben ser considerados con otra información clínica disponible por el médico.

CONTROL DE CALIDAD

Control de Calidad Interno:

Un procedimiento de control interno se incluye en este test. La línea coloreada cambia de azul a rojo en la región de línea de control ©, lo que confirma un volumen suficiente de búfer y adecuada absorción de la membrana. Sin embargo se recomienda que los controles positivos y negativos sean examinados de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio para confirmar el procedimiento y la apropiada funcionalidad del test.

Control de Calidad Externo:

Este kit no proporciona controles externos. Como buena práctica de laboratorio se recomienda el uso de materiales de control para verificar el funcionamiento apropiado

del kit.

LIMITACIONES

- Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de antígeno NS1 del virus del dengue presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o los antígenos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge la muestra.
- Un resultado negativo de la prueba no puede excluir una infección reciente.
- La presencia del NS1 Ag detectable del virus del dengue puede ser positivo para la infección temprana por dengue. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados se deben considerar con otra información clínica disponible para el médico
- En infecciones tempranas y algunas infecciones secundarias, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos dentro de los primeros siete a diez días después de la infección. Donde los síntomas persisten, los pacientes deben volver a hacerse la prueba 3-4 días después de la primera muestra. La reactividad serológica cruzada en el grupo Flavivirus (virus del dengue, encefalitis de St. Louis, encefalitis japonesa, virus del Nilo occidental y fiebre amarilla) es común.

VALORES PREVISTOS

La infección primaria por dengue se caracteriza por la presencia de anticuerpos IgM detectables 3 a 5 días después del inicio de la infección. La infección secundaria por dengue se caracteriza por la elevación de IgG específica del dengue. En la mayoría de los casos, esto se acompaña de niveles elevados de IgM. El dispositivo de prueba rápida Dengue IgG/IgM (sangre entera / suero / plasma) se comparó con una prueba comercial líder de Dengue ELISA, demostrando una sensibilidad del 82,4% para IgM en infección primaria y > 99,0% para IgG en infección secundaria. Se espera que el NS1 Ag se detecte 1 día después de la aparición de la fiebre y persista hasta 9 días en la infección por dengue primario y secundario. Pero si se producen anticuerpos anti-NS1 Ag, la detección de NS1 Ag se inhibe.

CARACTERISTICAS TECNICAS

Sensibilidad clínica, especificidad y precisión

La prueba rápida combo Dengue IgG/IgM + NS1 Ag (sangre total / suero / plasma) ha sido evaluado con muestras obtenidas de una población de individuos sintomáticos y asintomáticos. Los resultados fueron confirmados por una prueba comercial líder de Dengue ELISA.

Test Rápido para Dengue IgG/IgM vs. ELISA

Infección por Dengue	Resultado	IgM	IgG
Infección primaria	Positivo	14	0
	Negativo	3	17
	Total	17	17
	Sensibilidad Relativa	82.40%	0%
Infección Secundaria	Positivo	39	55
	Negativo	16	0
	Total	55	55
	Sensibilidad Relativa	70.90%	>99.0%
Infección No-Dengue	Positivo	0	0
	Negativo	378	378
	Total	378	378
	Especificidad Relativa	>99.0%	>99.0%

Para la infección primaria y secundaria la sensibilidad global es de 95.8%, la especificidad global es de >99.0% y la exactitud global es de 99.3%

Test rápido DENGUE NS1 Ag vs Cultivo:

Prueba rápida Dengue NS1 Ag	Cultivo		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	104	3	107
Negativo	8	186	194
Total	112	189	301

Sensibilidad Relativa: 104 / (104+8) = 92,8%

Especificidad Relativa: 186 / (186+3) = 98,4%

Acuerdo General: (104+186) / (104+8+186+3) = 96,3%

Precisión

Intra-ensayo

La precisión interna se ha determinado mediante el uso de 10 repeticiones de cinco especímenes: un negativo, un NS1 Ag positivo, una IgG positiva, una IgM positiva y una IgG / IgM doble positiva. Las muestras fueron identificadas correctamente > 99% de el tiempo.

Inter-ensayo

La precisión entre corridas ha sido determinada por 10 ensayos independientes en los mismos cinco especímenes: negativo, un NS1 positivo, un IgG positivo, un IgM positivo y un IgG / IgM doble positivo. Tres diferentes lotes del dispositivo de prueba rápida de dengue (sangre total / suero / plasma) han sido probados usando estos especímenes. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

BIBLIOGRAFIA

- Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6:251-264
- Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481
- Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Japanese J. Trop. Med. Hygiene 1994; 22: 9-12
- Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. Rev. Med. Micro. 1995; 6:39-48
- Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization
- Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. Wien Med Wochenschr (in German). 1997; 147(19-20): 463-4
- Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus infections. Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.

IMPORTADOR/ ACONDICIONADOR

MONTEBIO S.R.L.

Vera 575, C.A.B.A., Argentina

Tel. Fax: 4858-0636



Autorizado por ANMAT: PM-246-50

Director Técnico: Farm. Sebastián Antonicelli MN: 14853

Condición de venta: Uso Profesional Exclusivo.

V-01