

COD: DEN-W23M

## USO INDICADO

La prueba rápida para Dengue (sangre entera/suero/plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM para el virus del Dengue en sangre entera, suero o plasma humano, como ayuda en el diagnóstico de infección por Dengue primaria y secundaria.

## 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.

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 testeo de IgG/IgM se compone de una tira de examinación. Esta tira utiliza anticuerpos anti-IgG y anti-IgM para detectar anti-dengue virus IgG e IgM en sangre humana, suero y plasma.

La prueba rápida para Dengue (sangre entera/suero/plasma) es un test rápido que utiliza una combinación de antígeno de Dengue recubierto de partículas coloreadas para la detección de anticuerpos IgG e IgM para el virus del Dengue en sangre entera, suero o plasma.

## PRINCIPIO

La tira de examinación para Dengue IgG/IgM detecta IgG y/o IgM de Dengue a través de una interpretación visual de desarrollo de color. Los antígenos del virus del dengue, y anticuerpos anti- IgG humana y anti-IgM humana son utilizados para detectar anticuerpos específicos en sangre entera, suero y plasma humano. Cuando una muestra es añadida a una muestra correctamente en el panel de testeo, anticuerpos específicos IgG/IgM, de estar presentes, se unirán a los antígenos del virus del dengue conjugados con partículas coloreadas en la almohadilla de muestra. Mientras la muestra migra a través de la tira de examinación por acción capilar e interactúa con reactivos en la membrana, el complejo será capturado por anticuerpos anti-IgG o anti-IgM humana inmovilizados en la zona de detección. Partículas excedidas en color son capturadas en la zona de control interna.

La presencia de una(s) banda(s) roja(s) en la región del test indica un resultado positivo para IgG particular y/o anticuerpos IgM, mientras que la ausencia de la banda indica un resultado negativo. Una banda roja en la región de control (C) sirve como procedimiento de control, indicando que se ha agregado un volumen apropiado de muestra y la absorción de la

membrana ha ocurrido .

## REACTIVOS

El dispositivo de reacción contiene antígenos de Dengue recubiertos de partículas coloreadas y anticuerpos de captura anti- IgM humana y anti- IgG humana.

## MATERIALES

### Materiales suministrados

Caja conteniendo:

- 1 ficha técnica
- 40 cassettes individualmente envasados
- 40 Pipetas descartables de 5µl para Dengue IgG/IgM
- 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 batas de laboratorio, 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.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

## 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 IgG/IgM está indicado para ser utilizados 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 tubos que contienen anticoagulantes como EDTA, citrato o heparina deben ser usados para el 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, lipemico, hemolizado, tratado con calor y contaminado será causa de resultados erróneos.

## PROCEDIMIENTO

Permita que el dispositivo de examinación, muestras, buffer 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) 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) 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 T1 T2

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

C T1 T2

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

C T1 T2

**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.

C T1 T2

**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)

C T1 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.

## 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 (C), 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 a las Buenas Prácticas de Laboratorio para confirmar que el procedimiento del test y para verificar 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 no puede desestimar una reciente infección. En una infección temprana y algunos casos de infección secundaria, los niveles detectables de IgM pueden llegar a ser bajos. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos dentro de los primeros siete a diez días luego de la infección. Cuando los síntomas persistan, los pacientes deben ser re-examinados 3-4 días luego de la primera muestra. La reactividad cruzada serológica a través del grupo Flavivirus (Virus del Dengue, encefalitis de St. Louis, encefalitis de Japón, virus del Nilo Oeste y fiebre amarilla) es común.

## VALORES PREVISTOS

La infección por Dengue primaria se caracteriza por la presencia de anticuerpos IgM detectables 3-5 días luego del inicio de la infección. La infección por Dengue secundaria se caracteriza por la elevación de IgG específico de Dengue. En la mayoría de los casos esto va acompañado de niveles elevados de IgM.

## CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

### Desempeño clínico:

El dispositivo de testeo rápido IgG/IgM (sangre, suero y plasma) ha sido comparado con el test más conocido y líder comercial ELISA, demostrando una sensibilidad del 82.4% para IgM en infección primaria y >99.0% de IgG en infección secundaria.

### Sensibilidad Clínica/Especificidad y Precisión:

El dispositivo de testeo rápido para Dengue IgG/IgM (sangre, suero y plasma) ha sido evaluado con las muestras obtenidas de una población de individuos sintomáticos y asintomáticos. Los resultados fueron confirmados por un test ELISA para Dengue, test líder comercial.

### 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
	<b>Sensibilidad Relativa</b>	<b>82.40%</b>	<b>0%</b>
Infección Secundaria	Positivo	39	55
	Negativo	16	0
	Total	55	55
	<b>Sensibilidad Relativa</b>	<b>70.90%</b>	<b>&gt;99.0%</b>
Infección No-Dengue	Positivo	0	0
	Negativo	378	378
	Total	378	378
	<b>Especificidad Relativa</b>	<b>&gt;99.0%</b>	<b>&gt;99.0%</b>

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%

## PRECISION

### INTRA-ENSAYO

Se ha determinado la precisión de una serie al utilizar 10 réplicas de 5 muestras: una negativa, una IgG positiva, una IgM positiva y una dual IgG/IgM positiva. Las muestras fueron correctamente identificadas >99% del tiempo.

### INTER-ENSAYO

Se ha determinado la precisión entre algunas series al utilizar 10 ensayos independientes en 5 mismas muestras: Una negativa, una IgG positiva, una IgM positiva y una dual IgG e IgM positiva. Se examinaron 3 lotes diferentes del Test rápido para Dengue (en sangre, suero y plasma) utilizando estas muestras. Las muestras fueron correctamente identificadas >99% del tiempo.

## 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