

REF

Catálogo Número R0061C

IVD

Diagnóstico In vitro

USO

La prueba rápida Dengue IgG/IgM Combo es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección y diferenciación simultánea de IgG e IgM anti-virus del Dengue (DEN1, 2, 3 and 4) en suero, plasma o sangre total humana. Este es usado por profesionales como tamizaje y ayuda diagnóstica de infección con el virus del Dengue. Las muestras reactivas con la prueba Dengue IgG/IgM^{3.0} Combo deben confirmarse con métodos alternativos.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

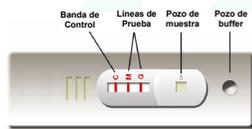
Los virus del Dengue, una familia con distintos serotipos (Den 1,2,3,4), de cadena simple, envuelto, de los virus de ARN positivos. Los virus son transmitidos por picadura en el día o la familia Stegomyia, principalmente el Aedes aegypti, y Aedes albopictus. Hoy, más de 2.5 billones de personas que viven en áreas tropicales de Asia, África, Australia, y las Américas están en riesgo de infectarse por Dengue. Se estima que 100 millones de casos de fiebre del dengue y 250,000 casos de dengue hemorrágico mortal ocurren anualmente en el mundo.

La detección serológica es el método más común para el diagnóstico de la infección con el virus del Dengue. La IgM anti-dengue aparece 3 días después de la exposición inicial y permanece en circulación por aproximadamente 30-60 días. Los niveles de IgG anti-dengue virus aumentan a los 7 días, alcanzan su pico de 2-3 semanas, y permanecen toda la vida^{4,5}.

La prueba rápida Dengue IgG/IgM Combo utiliza proteínas recombinantes del dengue las cuales reconocen los anticuerpos IgG e IgM de los cuatro serotipos del virus. La prueba es fácil de usar, sin necesidad de equipo de laboratorio engorroso, requiriendo un mínimo de capacitación del personal.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba rápida Dengue IgG/IgM es un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral el cual detecta anticuerpos contra los cuatro serotipos del virus del Dengue. La prueba de casete consiste en: 1) una almohadilla de conjugado de color bordeaux que contiene antígenos de la envoltura del dengue recombinante conjugado con oro coloidal (conjugados dengue) y conjugados de IgG-oro de conejo, 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene anti IgG humano, banda M está revestida con IgM anti-humano, y la banda C previamente recubiertas con anticuerpo de cabra anti IgG de conejo.



Cuando un volumen adecuado de muestra es dispensada en el pozo de muestra del casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si la IgG anti-dengue está presente, se unirá con los conjugados del dengue. El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgG humana, formando una coloración bordeaux indicando presencia de IgG contra el dengue positiva, resultado de resultado que sugiere una infección de dengue secundaria o infección por Dengue anterior. La IgM anti-dengue, si está presente en la muestra, se une con los conjugados del dengue. El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgM humana, formando una banda color bordeaux en la línea M, indicando una IgM positiva contra el dengue, resultado de una infección primaria reciente. Si se colorea la banda G y la M, los resultados sugieren que se trata de una infección primaria y secundaria con el virus del Dengue. La ausencia de las bandas (G y M) sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (banda C), la cual muestra una coloración bordeaux por la formación de un inmunocomplejo de cabra anti IgG de conejo / conjugado IgG-oro de conejo, independientemente del desarrollo de color en cualquiera de las bandas de prueba (G y M). De lo contrario, el resultado de la prueba no es válida y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

- Bolsa de aluminio sellada que contiene:
 - Un dispositivo de casete
 - Un desecante
- Mini pipetas de 5 µL
- Diluyente de Muestra (1 vial, 5 mL)
- Un inserto (instrucciones de uso)

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN

- Reloj o cronómetro
- Lanceta

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso de Diagnóstico in Vitro

- Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos
- No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atemperare los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos
- No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
- No utilice sangre hemolizada para la prueba.
- Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.
- Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.

- No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
- Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
- Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes.
- Los resultados de las pruebas pueden ser leídos 25 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados después de los 25 minutos puede generar resultados erróneos.
- No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2-30°C. Los controles positivos y negativos deben mantenerse 2-8°C. Si se almacena de 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba se estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúlelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma

- Recolecte la muestra en un tubo tapa lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina) por venopunción.
- Separe el plasma por centrifugación.
- Cuidadosamente transfiera el plasma a un tubo nuevo.

Suero

- Recolecte por venopunción la muestra en un tubo tapa roja (sin anticoagulantes)
- Espere la formación del coagulo
- Separe el suero por centrifugación
- Cuidadosamente transfiera el suero a un tubo nuevo

Procesar las pruebas lo más pronto posible a la toma de la muestra. Almacene las muestras de 2°C a 8°C si no se van a procesar inmediatamente. Las muestras son estables almacenadas de 2° a 8°C durante 5 días. Las muestras pueden congelarse a -20°C para almacenamientos prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación de las muestras. Antes del ensayo, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles, deben ser eliminadas por centrifugación antes de la prueba. No use muestras con alias lipemias, hemolisis o turbidez ya que pueden interferir en la interpretación de los resultados.

Sangre

Las gotas de sangre pueden obtenerse por punción digital o venopunción. No use sangre hemolizada para realizar la prueba.

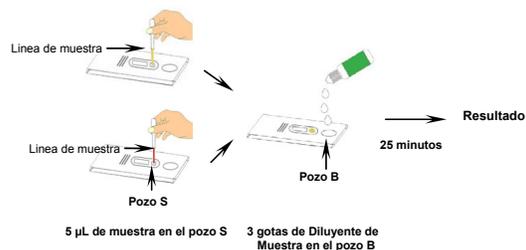
Las muestra de sangre total se pueden almacenar en (2°C-8°C) si no va a ser procesada la muestra inmediatamente. Debe hacerse la prueba antes de cumplir 24 horas después de la recolección.

PROCESAMIENTO

- Lleve las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado.
- Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.
- Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.
- Llene la mini pipeta con el suero, plasma o sangre, no exceda la línea de muestra como se muestra en la imagen. El volumen es aprox 5µL. **Para mayor precisión, transfiera la muestra con una pipeta que de exacto el volumen.**

Con la pipeta en posición vertical, dispense la muestra en el centro del pozo de muestra (pozo S) asegurándose de que no hayan burbujas de aire.

Inmediatamente agregar 3 gotas (aprox.110-130 µL) de Diluyente de Muestra en el pozo de Buffer (pozo B).



Paso 5: Contabilice el tiempo.

Paso 6: Lea los resultados en 25 minutos.

No lea los resultados después de 25 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.

CONTROL DE CALIDAD

- Control Interno:** Esta prueba contiene un control incluido, la banda C. esta se desarrolla después de adicionar la muestra. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.
- Control Externo:** las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:
 - Cuando un Nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.
 - Cuando se inicia un nuevo kit.
 - Un nuevo envío de kits es utilizado.
 - Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2°C - 30°C.
 - La temperatura del sitio de procesamiento esta por fuera de 15°C-30°C.
 - Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
 - Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- RESULTADO NEGATIVO:** Si solo se colorea la banda C, hay ausencia de las bandas G y M indica que no hay anticuerpos anti- dengue en la muestra. El resultado es Negativo no-reactivo.



- RESULTADO POSITIVO:**

2.1 Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda G, el resultado indica la presencia de IgG anti-dengue; el resultado es IgG positiva o reactiva, sugiriendo etapa primaria tardía, secundaria o principios de la infección.



2.2 Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda M, el resultado indica la presencia de IgM anti-dengue; el resultado es IgM positiva o reactiva, sugiriendo una infección primaria por el virus del dengue.



2.3 Además de la presencia de la banda C, tanto la banda G como la M se colorean, la prueba indica la presencia de IgG e IgM anti-dengue. El resultado es IgG e IgM positiva o reactiva, señalando una infección por el virus del dengue primaria o secundaria temprana.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmados con métodos alternativos y junto con la sintomatología clínica antes de hacer una determinación diagnóstica.

- INVALIDO:** Si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

1. Rendimiento Clínico para la prueba IgM

Un total de 314 muestras de pacientes susceptibles fueron evaluados con la Prueba Rápida Dengue IgG/IgM Combo y un EIA de Referencia. La comparación se observa en la siguiente tabla:

IgM EIA Test	Prueba Rápida Dengue IgG/IgM Combo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	31	1	32
Negativo	3	279	282
Total	34	280	314

Sensibilidad Relativa: 96.9% , Especificidad Relativa: 98.9%, Concordancia: 98.7%

2. Rendimiento Clínico para la prueba IgG

Un total de 326 muestras de pacientes susceptibles fueron probadas con la prueba rápida Dengue IgG/IgM Combo con una prueba de EIA como referencia. La comparación se encuentra en la siguiente tabla:

IgG EIA Test	Prueba Rápida Dengue IgG/IgM Combo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	36	1	37
Negativo	2	287	289
Total	38	288	326

Sensibilidad Relativa: 97.3% , Especificidad Relativa: 99.3%, Concordancia: 99.1%

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- El procedimiento de la prueba y la interpretación de los resultados debe ser analizada cuando se detectan anticuerpos contra el dengue en suero, plasma o sangre total. Cualquier falla en el procedimiento puede llevar a resultados erróneos.
- La prueba Rápida Dengue IgG/IgM Combo se limita a la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus del Dengue en suero, plasma o sangre total humana. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación con el título de anticuerpos en la muestra.
- La información de los serotipos del dengue no es proporcionado con este examen.
- La prueba Rápida Dengue IgG/IgM Combo no se puede usar para diferenciar infección primaria de la secundaria.
- La reactividad cruzada con otros flavivirus es común (ej: Encefalitis japonesa, Virus del Nilo, Fiebre amarilla, etc) por lo tanto, es posible que los pacientes infectados con estos virus muestren cierto grado de reactividad con esta prueba.
- Un resultado negativo o no-reactivo indica la ausencia de anticuerpos detectables del virus del dengue. Sin embargo los resultados no concluyen la posibilidad de la exposición o infección con el virus.
- Un resultado negativo o no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos contra el dengue presentes en la muestra son menores al límite de detección de la prueba, o los anticuerpos detectados no están presentes en el estadio de la infección cuando es recolectada la muestra.
- Algunas muestras contienen anticuerpos heterófilos o factor reumatoideo lo cual puede afectar los resultados.
- Si los síntomas persisten y la prueba Rápida Dengue IgG/IgM Combo da resultado negativo o no-reactivo, es recomendable tomar una nueva muestra días después o usar algún método diagnóstico alternativo.
- Los resultados obtenidos deben ser interpretados junto con otros métodos diagnósticos y la historia clínica del paciente.

REFERENCIAS

- Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. Emerg Infect Dis 1995;1(2):55-57.
- Gubler DJ, Trent DW. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. Infect Agents Dis 1994;2:383-393
- Monath TP. Dengue: The risk to developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci U S A 1994;91:2395-2400.
- Price DD, Wilson SR. Dengue Fever, e-medicine, <http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm>, Jan, 2002.
- Innis BL, and Nisalak A, et al: An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where denude and Japanese encephalitis co-circulate. Am. J. Trop. Med. Hygiene. 1989; 40: 418-427.
- Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997.

Índice de Símbolos

	Consulte las instrucciones de uso		Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> únicamente		Utilice por
	Catálogo número		Número de Lote		Pruebas por kit
	Almacenar de 2 a 30°C		Representante Autorizado		No reutilizar
	Fabricante		Fecha de fabricación		

CTK Biotech, Inc.
 13855 Stowe Drive Poway,
 CA 92064 USA
 Tel: 858-457-8698
 Fax: 858-535-1739
 E-mail: info@ctkbiotech.com

EC REP MDSS GmbH
 Schiffgraben 41, 30175 Hannover, Germany
 Tel.: (+49)-511-6262 8630

PI-R0061C Rev. H
 Effective date: 2012-10-01
 Versión en Español