

DENGUE IgM/IgG+NS1

(Suero/Plasma/Sangre Total)

Oro Coloidal.

Prueba de detección rápida de anticuerpos IgM e IgG y antígeno NS1 del virus del Dengue en suero, plasma y sangre total de un paso.

Uso:

La prueba rápida de IgG/IgM y NS1 para dengue es una prueba cualitativa para la detección de anticuerpos IgM e IgG y antígeno NS1 del virus del dengue en suero, plasma y sangre total en humanos. Esta prueba es solo para uso diagnóstico in vitro.

Introducción:

El virus del dengue, un virus perteneciente al grupo de los Flavivirus, es una de las enfermedades transmitidas por mosquitos más importantes del mundo en términos de morbilidad y mortalidad. Transmitido principalmente por los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, el virus se encuentra comúnmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Existen cuatro serotipos conocidos de dengue. Los síntomas del dengue incluyen fiebre alta, dolor de cabeza, dolor muscular y erupción cutánea. Las complicaciones frecuentemente asociadas a esta infección son la fiebre hemorrágica del dengue o el síndrome de choque por dengue. La respuesta inmunitaria a este virus incluye la producción de anticuerpos IgM al quinto día de la aparición de los síntomas, los cuales permanecen en el sistema circulatorio durante 30 a 60 días. Los anticuerpos IgG aparecen al decimocuarto día de la infección y persisten de por vida. Una infección secundaria suele producir fiebre alta y, en muchos casos, desencadena hemorragias e insuficiencia circulatoria. Una infección secundaria también induce una respuesta de anticuerpos IgM después de 20 días de la infección, y los anticuerpos IgG aumentan entre 1 y 2 días después del inicio de los síntomas. Por lo tanto, los pacientes con infecciones secundarias tendrán un resultado positivo de IgG, generalmente con un resultado positivo de IgM también. De ahí la gran utilidad clínica de una prueba serológica rápida, fiable y sensible que pueda detectar simultáneamente la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra el dengue. Mediante el uso de una mezcla de proteínas del dengue altamente purificadas, la prueba es capaz de detectar los cuatro serotipos del dengue. La detección combinada del antígeno NS1 en muestras puede mejorar la tasa de detección de la infección por el virus del dengue y proporcionar una mejor base para el diagnóstico clínico auxiliar.

Introducción:

El dengue es un flavivirus transmitido por los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Se encuentra ampliamente distribuido por las zonas tropicales y subtropicales del mundo, y provoca hasta 100 millones de infecciones al año. La infección clásica por dengue se caracteriza por la aparición repentina de fiebre, intenso dolor de cabeza, mialgia, artralgia y erupción cutánea. La infección primaria por dengue provoca que los anticuerpos IgM aumenten hasta un nivel detectable entre 3 y 5 días después del inicio de la fiebre. Los anticuerpos IgM suelen persistir entre 30 y 90 días. La mayoría de los pacientes con dengue en regiones endémicas presentan

infecciones secundarias, lo que da lugar a altos niveles de anticuerpos IgG específicos antes de la respuesta de IgM o simultáneamente a ella.

Por lo tanto, la detección de anticuerpos específicos anti-dengue IgM e IgG puede ayudar también a distinguir entre infecciones primarias y secundarias. El dispositivo de prueba rápida de IgM/IgG para el dengue (sangre total/suero/plasma) es una prueba rápida que utiliza una combinación de partículas coloreadas recubiertas de antígeno del dengue para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra el dengue en sangre total, suero o plasma humanos.

Principio:

Esta prueba se basa en el principio de la inmunocromatografía con oro coloidal para la detección cualitativa de anticuerpos IgM e IgG y del antígeno NS1 del virus del dengue en suero, plasma y sangre total humanos.

La prueba de IgG/IgM del dengue, el antígeno de la envoltura recombinante del dengue marcado con oro coloidal, el marcador de oro coloidal se recubrió en una almohadilla de oro, y el anticuerpo monoclonal anti-IgM humana y el anticuerpo monoclonal anti-IgG humana se recubrieron en la posición de la línea de detección (línea T) en la membrana de nitrocelulosa. La línea de control (línea C) se recubrió con anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón. Cuando se agrega una cantidad adecuada de muestra a analizar al pocillo de muestra del cassette de prueba, la muestra avanzará bajo la acción de la cromatografía. Si la muestra contiene anticuerpos IgG/IgM del dengue, el anticuerpo puede unirse a un antígeno de la envoltura recombinante del dengue marcado con oro coloidal para formar un complejo inmune. El complejo inmune continuará avanzando a través de la membrana de nitrocelulosa. Cuando el complejo inmune pasa la línea T, se une al anticuerpo anti-IgM humana recubierto. El anticuerpo monoclonal y el anticuerpo monoclonal anti-IgG humana forman un complejo y se aglutinan. El marcador de oro coloidal libre y el anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG de ratón recubierto en la línea se unen y desarrollan color. Las muestras negativas desarrollan color solo en la línea C.

La prueba de NS1 del dengue, el reactivo contiene anticuerpo monoclonal anti-NS1 del dengue prefijado en el área de prueba (T) en la membrana y el anticuerpo monoclonal anti-NS1 del dengue recubierto en la almohadilla de etiquetado de la mezcla de oro coloidal. La muestra colocada en el pocillo de muestra reacciona con el anticuerpo monoclonal anti-NS1 del dengue que está unido a las partículas de oro coloidal pre-recubiertas durante la prueba. Luego, la mezcla se cromatografía hacia arriba con efectos capilares. Si es positivo, el anticuerpo marcado por partículas de oro coloidal se unirá primero al antígeno que se va a analizar en la muestra durante la cromatografía. Luego, los conjugados se unen al anticuerpo monoclonal anti-Dengue NS1 fijado en la membrana, y aparece una línea roja en el área de prueba (T). Si es negativo, no hay línea roja en el área de prueba (T). Ya sea que la muestra contenga o no el antígeno a analizar, aparecerá una línea roja en el área de control de calidad (C). La línea roja que aparece en el área de control de calidad (C) es el estándar para juzgar si hay suficientes muestras y si el proceso cromatográfico es normal, y también sirve como estándar de control interno para el reactivo.

Almacenamiento y Estabilidad:

Almacene el kit de prueba por debajo de 2 °C a 35 °C. No congelar. Utilice el kit hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Recolección de la Muestra:

Considere cualquier material de origen humano como infeccioso y manipúlelo siguiendo los procedimientos estándar de bioseguridad.

• Plasma:

1. Recoja la muestra de sangre en un tubo de recogida (con anticoagulantes de heparina, EDTA o citrato de sodio) mediante punción venosa.

Los diferentes anticoagulantes (EDTA, heparina, citrato de sodio) utilizados habitualmente en dosis clínicas no afectan a los resultados analíticos de las muestras.

2. Separar el plasma mediante centrifugación.

3. Extraer con cuidado el plasma y transferirlo a un nuevo tubo previamente etiquetado.

• Suero:

1. Recoger la muestra de sangre en un tubo de recogida (que no contenga anticoagulantes) mediante punción venosa.

2. Deje que la sangre coagule.

3. Separe el suero mediante centrifugación.

4. Transferir con cuidado el suero a un nuevo tubo previamente etiquetado. Analice las muestras lo antes posible tras su recogida. Conserve las muestras a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 3 días si no se analizan inmediatamente.

• Sangre total:

Se pueden obtener gotas de sangre completa mediante punción en la yema del dedo. No utilice sangre hemolizada para el análisis.

Las muestras de sangre total deben conservarse entre 2 °C y 8 °C si no se analizan de inmediato.

No congele las muestras de sangre completa. La sangre completa obtenida mediante punción en el dedo debe analizarse inmediatamente.

Precauciones:

• Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de fecha de caducidad.

• No coma, beba ni fume en la zona donde se manipulen las muestras o los kits.

• Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.

Observar las precauciones establecidas contra los agentes microbiológicos durante la realización de las pruebas y siga los procedimientos para la correcta eliminación de las muestras.

• Utilice 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.

Materiales Proporcionados:

• Cassettes. La cantidad de cassettes de pruebas están indicadas en la caja.

• Buffer.

• Inserto: 1 copia.

Materiales Requeridos (Pero no provistos):

• Recipientes de recogida de muestras.

• Lancetas (sólo para punción digital de sangre total).

• Centrifugadora (sólo para plasma y suero).

• Temporizador.

Procedimiento de la Prueba:

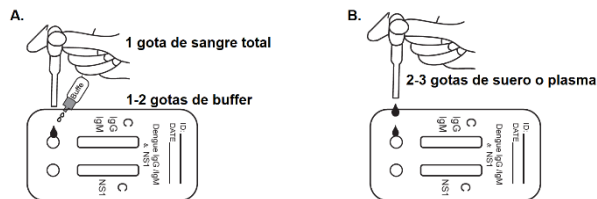
1. Deje reposar el cassette de análisis, la muestra y el buffer durante 15-30 minutos, y deje que alcancen la temperatura ambiente (10-30 °C).
2. Abra la bolsa de papel de aluminio del cassette de análisis y coloque el cassette sobre una superficie plana.
3. Anote el identificador de la muestra en la carcasa de plástico del cassette de análisis.
4. Detección de la muestra.

A. Muestras de sangre total:

1. Añada 1 gota de muestra de sangre total (aproximadamente 20-30µL) al pocillo de muestra del cassette de prueba.
2. A continuación, añada 1 o 2 gotas de buffer al pocillo de muestra del cassette de prueba.
3. Espere a que aparezcan las bandas de color. El resultado debe leerse en un plazo de 15 minutos. No interprete el resultado transcurridos 20 minutos.

B. Muestras de suero o plasma:

1. Añada 2 o 3 gotas (aproximadamente 60-70µL) de suero o plasma al pocillo de muestra del cassette de prueba.
2. Espere a que aparezcan las bandas de color. Evite que queden burbujas de aire en el pocillo de la muestra(S). El resultado debe leerse en un plazo de 15 minutos. No interprete el resultado transcurridos 20 minutos.

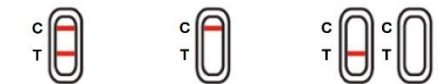


IgG/IgM



Positivo **Negativo** **Inválido**

NS1



Positivo **Negativo** **Inválido**

Interpretación de los Resultados:

Positivo: La línea de color de la zona de control (C) cambia de rojo a azul, y aparece una línea de color en la zona de prueba IgG, IgM o NS1. El resultado es positivo para anticuerpos específicos para IgG, IgM o antígeno NS1 del virus del dengue e indica una infección por dengue.

Negativo: La línea de color de la zona de control (C) cambia de rojo a azul. No aparece ninguna línea en las zonas de prueba IgG, IgM o NS1.

No válido: No aparece ninguna línea roja en el área de control de calidad (C). Esto indica que el procedimiento no se ha realizado correctamente o que el cassette de prueba está deteriorado o dañado.

Repita la prueba con un nuevo kit. Si el problema persiste, deje de utilizar este número de lote inmediatamente y póngase en contacto con su proveedor local.

Limitaciones del Procedimiento:

1. La prueba rápida de IgM/IgG y NS1 para el dengue (sangre total/suero/plasma) está destinado exclusivamente al diagnóstico in vitro. La prueba debe utilizarse únicamente para la detección de anticuerpos contra de IgM/IgG y antígeno NS1 el dengue en muestras de sangre total, suero o plasma. Con esta prueba cualitativa no se puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de la concentración de anticuerpos contra el dengue.
2. La prueba rápida de IgM/IgG y NS1 para el dengue (sangre total / suero / plasma) solo indicará la presencia de anticuerpos y antígeno contra el dengue en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico del dengue.

Control de Calidad:

Los controles internos de procedimiento se incluyen en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es un control positivo interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. De no observarse ninguna línea en la zona de control (C) de la membrana de reacción, significa que la muestra no se ha añadido correctamente o que la prueba podría haberse deteriorado.

No obstante, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba.

Características del Desempeño:

Límite mínimo de detección:

Detección de 3 productos de referencia de sensibilidad (L1, L2, L3), y el resultado es positivo para L2 y L3; negativo para L1.

Análisis de sensibilidad y especificidad:

Detección de 10 productos de referencia corporativos positivos, y todos los resultados fueron positivos.

Detección de 20 productos de referencia corporativos negativos, y los resultados fueron negativos.

Reactividad cruzada:

Esta prueba no presenta reactividad cruzada con los siguientes microorganismos:

- Hepatitis B core antibody (HBcAb).
- Hepatitis B surface antibody (HBsAb).
- Hepatitis B e Antigen (HBeAg).
- Hepatitis B e Antigen (HBeAg).
- Hepatitis B e antibody (HBeAb).
- Human antimouse antibody (HAMA).
- Cytomegalovirus(CMV) antibody.
- Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg).
- Hepatitis C virus (HCV) antibody.
- Rheumatoid factor (RF) hasta 8.400IU/mL.
- ANA.
- H. Pylori
- Chagas.
- Chikungunya.
- Syphilis antibody.
- hCG.
- Rubella.
- T.gondi.
- Typhi.
- HAMA.
- T.pallidum.

Sensibilidad y Especificidad Diagnóstica:

La precisión de la prueba ha sido evaluada mediante un estudio comparativo con una otra prueba actualmente comercializada. Los resultados detallados se muestran en la tabla a continuación:

DENGUE NS1.

Kit Evaluado	Kit Comparado		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	151	2	153
Negativo	3	405	408
Total	154	408	561

Sensibilidad diagnóstica: 98,69%

Especificidad diagnóstica: 99,51%

Tasa de coincidencia global: 99,11%

DENGUE IgG.

Kit Evaluado	Kit Comparado		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	145	4	149
Negativo	2	213	216
Total	147	217	364

Sensibilidad diagnóstica: 98,64%

Especificidad diagnóstica: 98,16%

Tasa de coincidencia global: 98,35%

DENGUE IgM.

Kit Evaluado	Kit Comparado		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	101	5	106
Negativo	3	255	258
Total	104	260	364

Sensibilidad diagnóstica: 97,11%

Especificidad diagnóstica: 98,08%

Tasa de coincidencia global: 97,80%

Referencias:

1. Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. Emerg Infect Dis 1995;1(2):55-57.
2. 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

