

DENGUE IgM/IgG

(Suero/Plasma/Sangre Total)

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

Uso:

Esta prueba rápida de IgM/IgG para el dengue (sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del dengue en sangre total, suero o plasma humanos, como ayuda en el diagnóstico de infecciones primarias y secundarias por dengue.

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:

La prueba rápida de IgM/IgG para el dengue (sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección de anticuerpos contra el dengue en sangre total, suero o plasma. Esta prueba consta de dos componentes: un componente de IgM y un componente de IgG. En el componente IgM, la línea de prueba 1 (IgM) del cassette está recubierta de anticuerpos anti-IgM humana. Durante la prueba, si los anticuerpos IgM contra el dengue presente en la muestra reaccionan con las partículas recubiertas de antígeno del dengue, este complejo es capturado por el anticuerpo anti-IgM humano, formando una línea coloreada en la región de la línea de prueba 1 (IgM). En el componente IgG, se ha recubierto la región de la línea de prueba 2 (IgG) de la prueba con anticuerpos anti-IgG humanos. Durante la prueba, la muestra reacciona con las partículas recubiertas con el antígeno del dengue presentes en el cassette. A continuación, la mezcla migra hacia arriba por la membrana de forma cromatográfica mediante acción capilar y reacciona con el anticuerpo anti-IgG humana en la zona de línea de prueba 2 (IgG). Si la muestra contiene anticuerpos IgG contra el dengue, aparecerá una línea de color en la zona de línea de prueba 2 (IgG).

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. Transfiera 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 10 µL) al pocillo de muestra del cassette de prueba.

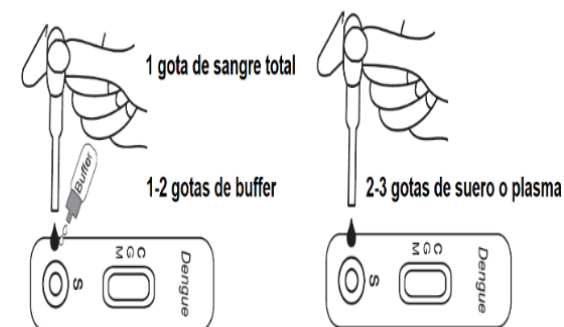
2. Abra la bolsa de papel de aluminio del cassette de prueba y añada 2 gotas (aproximadamente 80 µL) de buffer al pocillo de muestra del cassette de prueba.

3. Espere a que aparezcan las bandas de color. El resultado debe leerse en un plazo de 10 minutos. No interprete el resultado transcurridos 15 minutos.

B. Muestras de suero o plasma:

1. Añada 5 µL de suero o plasma al pocillo de muestra del cassette de prueba.

2. A continuación, añada 2 gotas (aproximadamente 80 µL) de buffer al pocillo de muestra del cassette de prueba. 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 10 minutos. No interprete el resultado transcurridos 15 minutos.



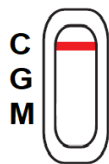
Interpretación de los Resultados:

IgG 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 2 (IgG). El resultado es positivo para anticuerpos IgG específicos del virus del dengue e indica una infección secundaria por dengue.

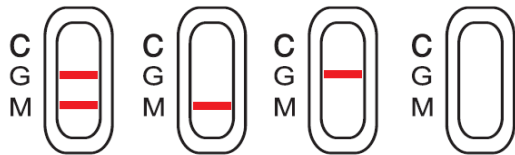
IgM Positivo: La línea de color en la zona de la línea de control (C) cambia de rojo a azul, y aparece una línea de color en la zona de la línea de prueba 1 (IgM). El resultado es positivo para anticuerpos IgM específicos del virus del dengue y probablemente indica una infección primaria por dengue.

IgM E IgG Positivos: La línea de color de la región de la línea de control (C) cambia de rojo a azul, y deberían aparecer dos líneas de color en las regiones de línea de prueba 1 y 2 (IgM e IgG). No es necesario que la intensidad del color de las líneas sea la misma. El resultado es positivo para los anticuerpos IgM e IgG e indica una infección secundaria por dengue.

NOTA: La intensidad del color en la(s) zona(s) de la línea de prueba (IgM y/o IgG) variará en función de la concentración de anticuerpos contra el dengue en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la(s) zona(s) de la línea de prueba (IgM y/o IgG) debe considerarse positivo.



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 1 o 2 (IgM o IgG).



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 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 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. El dispositivo de prueba rápida de IgM/IgG para el dengue (sangre total / suero / plasma) solo indicará la presencia de anticuerpos contra el dengue en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico del dengue.
3. En las primeras fases de la fiebre, las concentraciones de IgM contra el dengue pueden estar por debajo de los niveles

detectables. En el caso de la infección primaria, un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) de captura de anticuerpos IgM (MAC-ELISA) mostró que el 80 % de los pacientes con dengue analizados presentaban niveles detectables de anticuerpos IgM al quinto día tras la infección, y que el 99 % de los pacientes dieron positivo en IgM al día 10. Se recomienda realizar las pruebas a los pacientes dentro de este plazo. En el caso de la infección secundaria, los anticuerpos se caracterizan por una baja fracción molar de IgM contra el dengue y una alta fracción molar de IgG que presenta una amplia reactividad frente a los flavivirus. La señal de IgM puede ser débil y puede aparecer una reacción cruzada en la zona de la línea de IgG.

4. Es frecuente la reactividad cruzada serológica en todo el grupo de los flavivirus (dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis de San Luis, virus del Nilo Occidental, encefalitis japonesa y virus de la fiebre amarilla). Los resultados positivos deben confirmarse por otros medios.

5. La presencia o ausencia continuada de anticuerpos no puede utilizarse para determinar el éxito o el fracaso del tratamiento.

6. Los resultados de pacientes inmunodeprimidos deben interpretarse con precaución.

7. Al igual que con todas las pruebas diagnósticas, todos los resultados deben interpretarse junto con el resto de la información clínica de que disponga el médico.

8. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no descarta en ningún caso la posibilidad de una infección por 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:

La prueba rápida de IgM/IgG para el dengue (sangre total/suero/plasma) ha sido evaluado con muestras obtenidas de una población de personas sintomáticas y asintomáticas. Los resultados se confirmaron mediante una prueba ELISA comercial líder para el dengue.

Infección Dengue	Resultado	IgM	IgG
Infección Primaria	Positivo	14	0
	Negativo	3	17
	Total	17	17
	Sensibilidad Relativa	82.4%	0%
Infección secundaria	Positivo	39	55
	Negativo	16	0
	Total	55	55
	Sensibilidad Relativa	70.9%	>99.0%
Sin Infección de dengue	Positivo	0	0
	Negativo	378	378
	Total	378	378
	Sensibilidad Relativa	>99.0%	>99.0%

En el caso de la infección primaria y secundaria:

Sensibilidad diagnóstica: 95,8 %.

Especificidad diagnóstica: 99,0 %.

Tasa de coincidencia global: 99,3%.

Presición:

Intraensayo:

La precisión intraensayo se ha determinado utilizando 10 réplicas de cuatro muestras: una negativa, una positiva para IgG, una positiva para IgM y una doblemente positiva para IgM/IgG. Las muestras se identificaron correctamente en más del 99 % de los casos.

Interensayo:

La precisión entre series se ha determinado mediante 10 ensayos independientes realizados con las mismas cuatro muestras: una negativa, una positiva para IgG, una positiva para IgM y una doblemente positiva para IgM/IgG. Se han analizado tres lotes diferentes del dispositivo de prueba rápida de IgM/IgG para el dengue (sangre total/suero/plasma) utilizando estas muestras.

Las muestras se identificaron correctamente en más del 99 % de los casos.

Referencias:

1. Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6:251-264
2. Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481
3. 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
4. Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. Rev. Med. Micro. 1995; 6:39-48
5. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization
6. 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.

