

Una prueba rápida para una prueba cualitativa para la detección del antígeno NS1, anticuerpos IgG e IgM del virus del dengue en sangre entera humana, suero o plasma.

Solo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa del antígeno NS1 y los anticuerpos IgG e IgM del virus del dengue en sangre humana entera, suero o plasma como ayuda en el diagnóstico del dengue.

infecciones

RESUMEN

El dengue es un flavivirus, transmitido por los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Está ampliamente distribuido en las áreas tropicales y subtropicales del mundo,¹ y causa hasta 100 millones de infecciones al año.² La infección por dengue clásico se caracteriza por la aparición repentina de fiebre, dolor de cabeza intenso, mialgia, artralgia y erupción cutánea. La infección primaria por dengue hace que los anticuerpos IgM aumenten a un nivel detectable entre 3 y 5 días después del inicio de la fiebre. Los anticuerpos IgM generalmente persisten durante 30 a 90 días.³ La mayoría de los pacientes con dengue en regiones endémicas tienen infecciones secundarias,⁴ lo que resulta en altos niveles de anticuerpos IgG específicos antes o simultáneamente con la respuesta IgM.⁵ Por lo tanto, la detección de anticuerpos IgM e IgG específicos contra el dengue también puede ayudar a distinguir entre la respuesta primaria y la secundaria. Infecciones NS1 es una de las 7 proteínas no estructurales del virus del dengue que se cree que están involucradas en la replicación viral. NS1 existe como monómero en su forma inmadura, pero se procesa rápidamente en el retículo endoplásmico para formar un dímero estable. Una pequeña cantidad de NS1 permanece asociada con orgánulos intracelulares donde se cree que está involucrada en la replicación viral. El resto de NS1 se encuentra asociado con la membrana plasmática o secretado como un hexádimero soluble. NS1 es esencial para la viabilidad viral, pero se desconoce su función biológica precisa. Los anticuerpos generados en respuesta a NS1 en la infección viral pueden reaccionar de forma cruzada con los antígenos de la superficie celular en las células epiteliales y las plaquetas y esto se ha implicado en el desarrollo de la fiebre hemorrágica del dengue.

Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) es una prueba rápida que utiliza una combinación de antígeno NS1, anticuerpos IgG e IgM del virus del dengue en sangre total humana, suero o plasma.

PRINCIPIO

Dengue IgG/IgM Rapid Test (Whole Blood/Serum/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 IgG y un componente IgM. En el componente IgG, la IgG antihumana está recubierta en la región de la línea de prueba de IgG. Durante la prueba, la muestra reacciona con las partículas recubiertas de antígeno del dengue en el casete de prueba. La mezcla luego migra cromatográficamente hacia arriba sobre la membrana por acción capilar y reacciona con la IgG antihumana en la región de la línea de prueba de IgG. Si la muestra contiene anticuerpos IgG contra el dengue, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG. En el componente IgM, la IgM antihumana está recubierta en la región de la línea de prueba de IgM. Durante la prueba, la muestra reacciona con anti-IgM humana. Los anticuerpos IgM contra el dengue, si están presentes en la muestra, reaccionan con la IgM antihumana y las partículas recubiertas de antígeno del dengue en el casete de prueba, y este complejo es capturado por la IgM antihumana, formando una línea coloreada en la región de la línea de prueba de IgM.

Por lo tanto, si la muestra contiene anticuerpos contra el dengue IgG y/o IgM, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG y/o IgM. Si la muestra no contiene anticuerpos contra el dengue, no aparecerá ninguna línea de color en ninguna de las regiones de la línea de prueba, lo que indica un resultado negativo. Para servir como control del procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

Dengue NS1 Rapid Test (Whole Blood/Serum/Plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección del antígeno dengue NS1 en sangre entera, suero o plasma. Durante la prueba, la muestra reacciona con el conjugado de anticuerpos contra el dengue en el casete de prueba. El conjugado de oro-anticuerpo se unirá al antígeno del dengue en la muestra de la muestra, que a su vez se unirá al Anti-Dengue NS1 recubierto en la membrana. A medida que el reactivo se mueve a través de la membrana, el anticuerpo contra el dengue NS1 en la membrana se unirá al complejo antígeno-anticuerpo y hará que se forme una línea de color en la región de la línea de prueba de la membrana de prueba. La intensidad de las líneas variará dependiendo de la cantidad de antígeno presente en la muestra. La aparición de una línea de color en la región de prueba debe considerarse como un resultado positivo.

REACTIVOS

Dengue IgG/IgM Rapid Test contiene partículas coloides de oro conjugadas con antígeno de dengue, IgM antihumano, IgG antihumano recubiertas en la membrana.

Dengue NS1 Rapid Test contiene partículas coloides conjugadas anti-dengue, anti-dengue recubiertas en la membrana

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. No lo use después de la fecha de vencimiento.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todo el procedimiento y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use 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 los resultados.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit se puede almacenar a temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C). El casete de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. El casete de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. **NO CONGELAR.** No lo use más allá de la fecha de vencimiento.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) se puede realizar con sangre total, suero o plasma.
- Para recolectar muestras de **sangre total por punción digital**:
 - Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón o límpiela con una toallita con alcohol. Deje secar.
 - Masaje la mano sin tocar el lugar de la punción frotando la mano hacia la punta del dedo medio o anular.
 - Perfore la piel con una lanceta estéril. Limpie el primer signo de sangre.
 - Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma y el dedo para formar una gota redonda de sangre sobre el lugar de la punción.
- Agregue la muestra de sangre total obtenida por punción digital al casete de prueba utilizando un cuentagotas de 5 ul o una micropipeta que mida 10 µL para la prueba de IgG/IgM y un cuentagotas de 25 µL o una micropipeta que mida 75 µL para la prueba NS1. Los cuentagotas de 5 µL o 25 µL provistos con la prueba dispensan aproximadamente 10 µL o 25 µL en una gota, incluso si se aspira más sangre en el cuentagotas.
- Separe el suero o el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo especímenes claros, no hemolizados.
- La prueba debe realizarse inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8 °C durante un máximo de 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20°C. La sangre total recolectada por punción venosa debe almacenarse a 2-8°C si la prueba se va a realizar dentro de los 2 días posteriores a la recolección. No congele las muestras de sangre completa. La sangre completa recolectada por punción en el dedo debe analizarse de inmediato.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben

congelarse y descongelarse repetidamente.

- Si se van a enviar muestras, se deben embalar de acuerdo con las normas locales para el transporte de agentes etiológicos.
- EDTA K2, heparina sódica, citrato de sodio y oxalato de potasio se pueden usar como anticoagulantes para recolectar la muestra.

MATERIALES

- | | |
|----------------------|-----------------------------|
| • Cassetes de prueba | Materiales provistos |
| • Buffer | • Cuentagotas |
| | • Instrucciones de uso |

Materiales requeridos, pero no provistos

- | | |
|---|---------|
| • Contenedores de recolección de muestras • Centrífuga | |
| • Micropipeta | • Reloj |
| • Lancetas (solo para sangre entera por punción en el dedo) | |

INSTRUCCIONES DE USO

Deje que la prueba, la muestra y el tampón alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de la prueba.

1. Lleve la bolsa a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y utilícelo dentro de 1 hora.

2. Coloque el casete sobre una superficie limpia y nivelada.

➤Para muestras de **suero o plasma**:

Para IgG/IgM:

- **Use un cuentagotas:** Sostenga el cuentagotas verticalmente, extraiga la muestra **hasta la línea de llenado** (aproximadamente 5 µL) y transfiera la muestra al **poçillo de muestra (S)** del casete de prueba, luego agregue **3 gotas de buffer** (aproximadamente 120 µL) al **poçillo de buffer (B)** y poner en marcha el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el poçillo de la muestra.
- **Para usar una micropipeta:** pipetee y dispense **5 µL de suero o plasma** en el **poçillo de muestra (S)** del casete de prueba, luego agregue **3 gotas de buffer** (aproximadamente 120 µL) en el poçillo de buffer (B) y ponga en marcha el cronómetro.

Para NS1:

- Sostenga el cuentagotas verticalmente y transfiera **3 gotas de suero o plasma** (aproximadamente 75 µL) al poçillo de la muestra (S) y ponga en marcha el cronómetro. Vea la ilustración a continuación.

➤Para muestras de **sangre total (venopunción/punción digital)**:

Para IgG/IgM:

- **Para usar un cuentagotas:** sostenga el cuentagotas verticalmente, extraiga la muestra hasta aproximadamente 1 cm por encima de la línea de llenado y transfiera **1 gota de sangre completa** (aproximadamente 10 µL) **al poçillo de la muestra (S)** de los cassetes de prueba, luego agregue **3 gotas de buffer** (aproximadamente 120 µL) en el **poçillo de buffer (B)** y ponga en marcha el cronómetro. Vea la ilustración a continuación.

- **Para usar una micropipeta:** Pipetee y dispense **10 µL de sangre completa** en el **poçillo de muestra (S)** del casete de prueba, luego agregue **3 gotas de buffer** (aproximadamente 120 µL) en el **poçillo de buffer (B)** y ponga en marcha el cronómetro. Vea la ilustración a continuación.

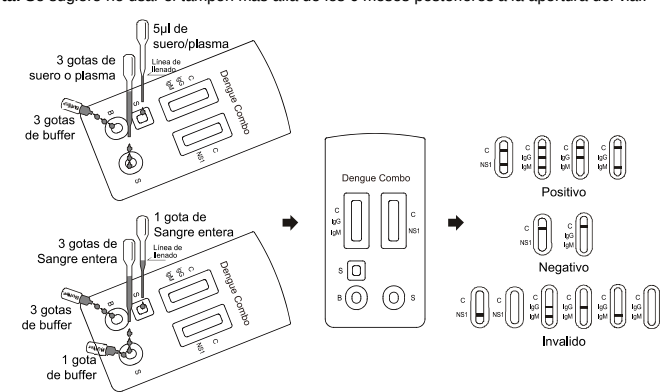
Para NS1:

- **Para usar un cuentagotas:** Sostenga el cuentagotas verticalmente y transfiera **3 gotas de sangre completa** (aproximadamente 75 µL) al poçillo de la muestra (S), luego agregue **1 gota de buffer** (aproximadamente 40 µL) y ponga en marcha el cronómetro. Vea la ilustración a continuación.

- **Para usar un tubo capilar:** llene el tubo capilar y transfiera aproximadamente 75 µL de muestra de sangre entera por punción digital al poçillo de muestra del casete de prueba, luego agregue **1 gota de buffer** (aproximadamente 40 µL) y ponga en marcha el cronómetro. Vea la ilustración a continuación

3. **Lea los resultados a los 10 minutos;** no interprete los resultados después de 20 minutos.

Nota: Se sugiere no usar el tampón más allá de los 6 meses posteriores a la apertura del vial.



INTERPRETACION DE RESULTADOS

(Consulte la ilustración anterior)

NS1 POSITIVO: * Aparecen dos líneas de colores. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de prueba (NS1).

IgG e IgM POSITIVO: * Aparecen tres líneas de colores. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y dos líneas de color deben aparecer en la región de la línea de prueba de IgG y la región de la línea de prueba de IgM. Las intensidades de color de las líneas no tienen que coincidir. El resultado es positivo para los anticuerpos IgG e IgM indicados en la etapa final de la infección primaria por dengue y en la etapa temprana de la infección secundaria por dengue.

IgG POSITIVO: * Aparecen dos líneas de colores. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C), y aparece una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG. El resultado es positivo para la IgG específica del virus del dengue y probablemente sea indicativo de una infección secundaria por dengue.

IgM POSITIVO: * Aparecen dos líneas de colores. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C), y aparece una línea de color en la región de la línea de prueba de IgM. El resultado es positivo para anticuerpos IgM específicos del virus del dengue y es indicativo de una infección primaria por dengue.

***NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba (NS1 y/o IgG y/o IgM) variará según la concentración del antígeno Dengue NS1 y/o IgG y/o IgG presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de rojo en la región de prueba debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea en la región de prueba (IgG/IgM/NS1).

INVALIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

En la prueba se incluye un control de procedimiento. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es el control de procedimiento interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. Los estándares de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda probar un control positivo y un control negativo como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

LIMITACIONES

1. Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) solo indicará la presencia de antígeno de dengue NS1 y anticuerpos contra el dengue en la muestra y no debe usarse como el único criterio para el diagnóstico de dengue.
2. Las INSTRUCCIONES DE USO y la INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS deben seguirse de cerca al analizar la presencia de anticuerpos/antígenos contra el dengue en sangre total, suero o

- plasma de sujetos individuales. El incumplimiento del procedimiento puede dar resultados inexactos.
- Un resultado negativo de la prueba para Dengue NS1 no excluye la posibilidad de exposición o infección con los virus del dengue.
 - Puede ocurrir un resultado negativo para Dengue NS1 si la cantidad de antígeno del dengue presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si el antígeno del dengue que se detecta no está presente durante la etapa de la enfermedad en la que se recolecta la muestra.
 - Algunas muestras que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
 - Si el síntoma persiste, mientras que el resultado de la prueba rápida Dengue NS1 es negativo o no reactivo, se recomienda volver a muestrear al paciente unos días después o realizar la prueba con un dispositivo de prueba alternativo como PCR, ELISA.
 - Los resultados obtenidos con esta prueba solo deben interpretarse junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.
 - En las primeras etapas de la fiebre, las concentraciones de IgM anti-dengue pueden estar por debajo de los niveles detectables. Para la infección primaria, un ensayo de adsorción inmune ligado a enzimas de captura de anticuerpos IgM (MACELISA) mostró que el 80 % de los pacientes con dengue analizados exhibieron niveles detectables de anticuerpos IgM al quinto día después de la infección, y el 99 % de los pacientes dieron positivo a IgM al día 10. Se recomienda que los pacientes sean evaluados dentro de este tiempo. Para la infección secundaria, una fracción molar baja de IgM anti-dengue y una fracción molar alta de IgG que es ampliamente reactiva a los flavivirus caracterizan a los anticuerpos.5 La señal de IgM puede ser débil y puede aparecer una reacción cruzada en la región de la línea IgG.
 - La reactividad cruzada serológica en el grupo de flavivirus (Dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis de St. Louis, virus del Nilo Occidental, encefalitis japonesa y virus de la fiebre amarilla) es común.6,7,8 Los resultados positivos deben confirmarse por otros medios.
 - La presencia o ausencia continua de anticuerpos no se puede utilizar para determinar el éxito o el fracaso de la terapia.
 - Los resultados de pacientes inmunosuprimidos deben interpretarse con precaución.
 - Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
 - Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomiendan pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye en ningún momento la posibilidad de infección por Dengue.
 - El hematocrito de la sangre entera debe estar entre 25% y 65%.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACION

Sensibilidad y especificad

Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) ha superado un panel de seroconversión y se ha comparado con una prueba comercial líder de ELISA Ag de Dengue utilizando muestras clínicas para Dengue NS1 y ha sido evaluado con muestras obtenidas de una población de individuos sintomáticos y asintomáticos. . Los resultados fueron confirmados por una prueba ELISA de dengue comercial líder para IgG e IgM.

Los resultados muestran que la sensibilidad relativa de Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) es del 95,8 %, y la especificidad relativa es del 96,1 %. Y la sensibilidad relativa general para la infección primaria y secundaria de la Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) es del 94,3 %, la especificidad relativa es del 99,1 % y la precisión relativa es del 98,3 %.

Dengue IgG/IgM

Infección primaria de dengue para resultados de prueba de IgM/IgG

Método		ELISA			
Dengue Rapid Test (WholeBlood/Serum/Plasma)	Resultados		Positivo		Negativo
	Positivo	IgM	IgG	IgG	
			20	0	0
		IgG	4	0	0
	Negativo	0		0	0
Especificidad relativa		83.3%		/	/

Infección secundaria de dengue para resultados de prueba de IgM/IgG

Método		ELISA			
Dengue Rapid Test (WholeBlood/Serum/Plasma)	Resultados		Positivo		Negativo
	Positivo	IgM	IgG	IgG	
			46	1	0
		IgG	18	63	0
	Negativo	0		0	0
Sensibilidad relativa		71.9%		98.4%	/

Infección no relacionada con el dengue para resultados de pruebas de IgM/IgG

Método		ELISA			
Dengue Rapid Test (WholeBlood/Serum/Plasma)	Resultados		Positivo		Negativo
	Positivo	IgM	IgG	IgG	
			0	0	1
		IgG	0	0	3
	Negativo	0		0	429
Especificidad relativa		/		/	99.1%

Sensibilidad relativa: (20+63)/ (24+64) =94.3% (95%CI*: 87.2%-98.1%);

Especificidad relativa: 429/433=99.1% (95%CI*: 97.7%-99.7%);

Precisión: (20+63+429)/ (24+64+433) =98.3% (95%CI*: 96.7%-99.2%).

*Intervalos de confianza

Dengue NS1

Método		Dengue Ag ELISA Test		esultados totales
Dengue NS1 Rapid Test (WholeBlood/Serum/Plasma)	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	137	8	
	Negativo	6	200	206
Resultados totales		143	208	351

Sensibilidad relativa: 137/143*100%=95.8% (95%CI*: 91.1%-98.4%);

Especificidad relativa: 200/208*100%=96.1% (95%CI*: 92.6%-98.4%);

Precisión: (137+200) /(137+6+8+200)*100%=96.0%(95%CI*:93.4%-97.8%).

*Intervalos de confianza

**Precisión
Intra-Ensayo**

La precisión dentro del ensayo se ha determinado mediante el uso de 15 réplicas de muestras de dengue. Los especímenes fueron identificados correctamente >99% del tiempo.

Inter-Ensayo

La precisión entre ejecuciones se ha determinado mediante 15 ensayos independientes en las mismas muestras de dengue. Se han probado tres lotes diferentes de la Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) utilizando estas muestras. Los especímenes fueron identificados correctamente >99% del tiempo.

Reactividad cruzada

Dengue Combo Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) ha sido probado por HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, anti-syphilis, anti-HIV, HCV, anti-H. Muestras positivas para Pylori, anti-MONO, anti-CMV, anti-Rubeola y anti-TOXO. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Sustancias interferentes

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras positivas y negativas de dengue.

Paracetamol: 20 mg/dL	Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL	Ácido ascórbico: 2 g/dL
Bilirrubina: 1 g/dL	Creatinina: 200 mg/dL	Cafeína: 20 mg/dL
ácido gentísico: 20 mg/dL	Hemoglobina 1000 mg/dL	Albumina: 2 g/dL
Ácido oxálico: 60 mg/dL		

Ninguna de las sustancias a la concentración probada interfirió en el ensayo.

BIBLIOGRAFIA

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 patientsdetected 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.
7. 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.
8. Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.

índice de símbolos

	Consultar las instrucciones de uso		Pruebas por kit		# de Catálogo
	Sólo para uso de diagnóstico <i>in vitro</i>		Usar hasta		No reutilizar
	Almacenar entre 2- 30 °C		Número de Lote		
	No usar si el paquete está dañado		Fabricante		



Hangzhou AllTest Biotech Co.,Ltd.
#550,Yinhai Street
Hangzhou Economic & Technological Development Area
Hangzhou, 310018 P.R. China
Web: www.alltests.com,cn Email: info@alltests.com,cn

Número: 14601194100
Fecha de revisión : 2022-11-17