

Prueba Rápida **OnSite**™ Duo Dengue Ag-IgG/IgM

REF R0062C CE

Instrucciones de Uso

USO

La Prueba Rápida *OnSite* Duo Dengue Ag-IgG/IgM es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección y diferenciación simultánea de IgG e IgM anti-virus dengue así como del antígeno del dengue NS1 (DEN 1,2,3,4) en suero, plasma o sangre total humanos. Se pretende para su uso por profesionales de la salud como apoyo en el diagnóstico de infección con el virus del dengue.

Cualquier uso o interpretación del resultado de esta prueba preliminar debe tomar en cuenta otros resultados clínicos y el criterio profesional de los proveedores de atención de la salud. Debe considerarse el uso de métodos de ensayo alternativos para confirmar el resultado obtenido por este dispositivo.

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

El virus del dengue, un virus envuelto ARN monocatenario positivo, que comprende cuatro serotipos relacionados pero distintos (DEN1, 2, 3 y 4). Los virus son transmitidos por mosquitos de la familia *Stegomyia* que pican durante el día, 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 se producen anualmente en el mundo^{1,2}.

El método más común para el diagnóstico de la infección con el virus del dengue es la detección serológica. La IgM anti-dengue comienza a aparecer 3 días después de la exposición inicial y permanece en circulación por aproximadamente 30-60 días. Los niveles de IgG anti-virus dengue se elevan alrededor de los 7 días, alcanza el máximo a las 2-3 semanas y persiste durante toda la vida^{4,6}. La detección de antígenos, como el dengue NS1, liberados durante la replicación del virus en el paciente infectado muestra resultados muy prometedores; permite el diagnóstico desde el primer día después de la aparición de fiebre hasta el día 9, una vez que la fase clínica de la enfermedad termina, lo que permite un diagnóstico y tratamiento tempranos⁷.

La Prueba Rápida *OnSite* Duo Dengue Ag-IgG/IgM detecta los anticuerpos IgG e IgM contra el virus del dengue y el antígeno NS1 circulante (DEN1, 2, 3 y 4) en suero, plasma y sangre total humanos. Puede ser ejecutado en 20-25 minutos por personal mínimamente calificado sin necesidad de equipos de laboratorio.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La Prueba Rápida *OnSite* Duo Dengue Ag-IgG/IgM contiene dos tiras reactivas (izquierda: prueba IgG/IgM anti-Dengue; derecha: prueba Ag Dengue).

La Prueba Rápida Dengue IgG/IgM que está en la parte izquierda, es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La tira consiste en: 1) una almohadilla coloreada que contiene antígenos de membrana del virus del dengue recombinantes conjugados con oro coloidal (conjugados de Ag Dengue) y un anticuerpo control conjugado con oro coloidal, 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de ensayo (líneas G y M) y una línea control (línea C). La línea G está pre-recubierta con anticuerpos para la detección de IgG anti-dengue, la línea M está pre-recubierta con anticuerpos para la detección de IgM anti-dengue, y la línea C está pre-recubierta con un anticuerpo control.

La Prueba Rápida Ag de Dengue que está en la parte derecha es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La tira de la prueba consiste en: 1) una almohadilla coloreada que contiene anticuerpos contra el antígeno de Dengue NS1 conjugados con oro coloidal (conjugados de Ac) y un anticuerpo control conjugado con oro coloidal, 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene la línea de prueba (línea T) y la de control (línea C). La línea T está pre-recubierta con anticuerpos contra el antígeno NS1, y la línea C está pre-recubierta con un anticuerpo control. Los anticuerpos contra el NS1 reconocen los antígenos de los cuatro serotipos del virus del dengue.

Cuando se adiciona un volumen adecuado de muestra al pozo de muestra del casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si el antígeno NS1 del dengue está presente en la muestra se une con los conjugados de dengue Ab. El inmunocomplejo es entonces capturado por la membrana pre-recubierta de anticuerpos contra antígeno NS1, formando una línea T coloreada. Si los anticuerpos IgG y/o IgM anti-dengue están presente en la muestra, se unirán con los conjugados Dengue Ag. El inmunocomplejo es capturado por el reactivo recubierto y se colorean una línea M coloreada en la línea G y/o M, respectivamente.

Resultados positivos de dengue Ag sugieren una infección activa. Resultados positivos de dengue IgM sugieren una infección primaria. Resultados positivos de dengue IgG sugieren una infección secundaria o pasada, y resultados positivos de dengue IgG e IgM sugieren una infección primaria avanzada o una infección secundaria temprana. Los resultados obtenidos con esta prueba deben usarse junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

La ausencia de las líneas G, M y T sugiere un resultado negativo. Cada tira contiene un control interno (línea C), la cual debe mostrar una coloración por la formación de inmunocomplejos de anticuerpos control en la parte izquierda y derecha del panel, independientemente del color en las demás líneas. Si esta línea no se colorea, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo. Un resultado no válido en un panel no invalida el resultado de la prueba en el otro panel.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

- Bolsa de aluminio sellada que contiene:
 - Un dispositivo de casete
 - Un desecante
- Tubos capilares de 5 µL (para la prueba Dengue IgG/IgM)
- Goteros de plástico (para la prueba Dengue Ag)
- Diluyente de Muestra (REF SB-R0062, 5 mL/botella)
- Instrucciones de Uso

MATERIALES QUE PUEDEN SER REQUERIDOS Y ESTAN DISPONIBLES PARA LA COMPRA

- Control para la prueba rápida *Positiva* Dengue Ag (Cat # C0063) que contiene control positivo y control negativo.

MATERIALES REQUERIDOS PERO QUE NO SE SUMINISTRAN

- Reloj o cronómetro
- Dispositivo de punción para la prueba de sangre completa

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso de Diagnóstico *in Vitro*

- Lea estas instrucciones de uso completamente antes de la realización de la prueba. Se pueden generar resultados erróneos si no se siguen las instrucciones correctamente.
- No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atempere 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.
- Siga 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 deben ser leídos entre 20-25 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Los resultados leídos fuera de los 20-25 minutos deben considerarse inválidos y deben ser repetidos.
- No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, como ventiladores o aire acondicionado.

PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. Almacene los dispositivos nuevos y sellados entre 2-30°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 es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit ni lo exponga a temperaturas superiores a 30°C.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA

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

Paso 1: Para todas las muestras: Recolecte sangre venosa mediante venopunción en un tubo de recolección que contenga EDTA, citrato o heparina para muestras de plasma o sangre, o un tubo de recolección que no contenga anticoagulantes para muestras de suero.

Paso 2: Para muestras de sangre: Analice inmediatamente o almacene refrigerada a 2-8°C por hasta 24 horas después de la recolección. No congele las muestras.

Para preparar plasma: Centrifugue la muestra recolectada y extraiga cuidadosamente el plasma en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Para preparar suero: Permita que la sangre coagule, centrifugue la muestra recolectada y extraiga cuidadosamente el suero en un nuevo tubo previamente etiquetado.

Paso 3: Sólo para plasma/suero: Analice las muestras inmediatamente después de la recolección o almacene refrigeradas a 2-8°C por hasta 5 días. Las muestras se pueden congelar a -20°C para un almacenamiento más prolongado. Evite múltiples ciclos de hielo-deshielo.

Antes de analizarlas, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle suavemente. Las muestras que contienen partículas visibles deben aclararse por centrifugación antes de la prueba.

Nota: Para evitar interferencias con la interpretación de los resultados, no analice muestras que demuestren franca lipemia, hemólisis intensa o turbidez.

PROCEDIMIENTO

Paso 1: Lleve los componentes de muestras y de prueba a temperatura ambiente, si fueron refrigerados o congelados. Una vez que la muestra ha sido descongelada, mezcle bien antes de realizar el ensayo.

Paso 2: Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.

Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.

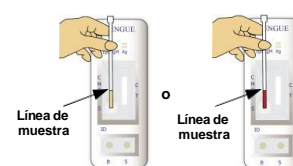
Paso 4:

Para la Detección de Dengue IgG/IgM

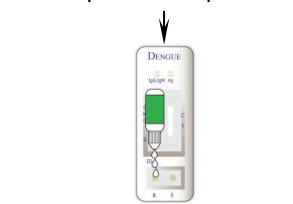
4.1 Llene el tubo capilar con suero/plasma/sangre total sin exceder la línea de muestra como lo muestra la imagen.

4.2 Con el tubo capilar en posición vertical, dispense la muestra (5 µL) en el centro del pozo de muestra (**pozo S**) asegurándose de que no haya burbujas.

Inmediatamente agregue 3 gotas (aprox. 90-120 µL) de diluyente de muestra dentro del pozo de buffer (**pozo B**) con la botella en posición vertical.



5 µL de muestra al pozo S



3 gotas de diluyente de muestra al pozo B

20 minutos

Resultado

Para la Detección de Dengue Ag

4.1 Llene el gotero de plástico con la muestra.

4.2 Con el gotero en posición vertical, dispense 2 gotas (aprox. 60 µL) de suero/plasma o 2 gotas (aprox. 70 µL) de sangre total en el pozo de muestra (**pozo S**) asegurándose de que no haya burbujas.

Inmediatamente agregue 1 gota (30-40 µL) de diluyente de muestra en el pozo de muestra (**pozo S**) con la botella en posición vertical.



2 gotas de muestra al pozo S



1 gota de diluyente de muestra al pozo S

20 minutos

Resultado

Paso 5: Cuente el tiempo.

Paso 6: Lea los resultados a los 20-25 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minuto. Los resultados negativos deben ser confirmados solo al final de los 25 minutos. **Sin embargo, cualquier interpretación de los resultados fuera de los 20-25 minutos deben ser considerados inválidos y la prueba debe repetirse. Después de interpretar los resultados, deseche el dispositivo según las normas locales.**

CONTROL DE CALIDAD

- Control Interno:** Esta prueba contiene un control interno, la banda C. Esta debe aparecer después de adicionar la muestra y el diluyente. Si la línea C no aparece, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

2. **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 2-30°C.
 - La temperatura del sitio de procesamiento esta por fuera de 15-30°C.
 - Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
 - Para investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

demuestran que, a las concentraciones probadas, las sustancias estudiadas no afectan el rendimiento de la Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM.

Lista de químicos de interferencia potencial y concentraciones analizadas:

1. Albúmina	60 g/L	6. Heparina	3,000 U/L
2. Bilirrubina	20 mg/dL	7. Ácido Salicílico	4.34 mmol/L
3. Creatinina	442 µmol/L	8. Citrato de sodio	3.8%
4. EDTA	3.4 µmol/L	9. IgG Humano	1,000 mg/dL
5. Glucosa	55 mmol/L		

7. **Efecto de Gancho de Dosis**

No se detectó ningún efecto de gancho con la concentración de antígeno NS1 del dengue hasta 200 µg/mL.

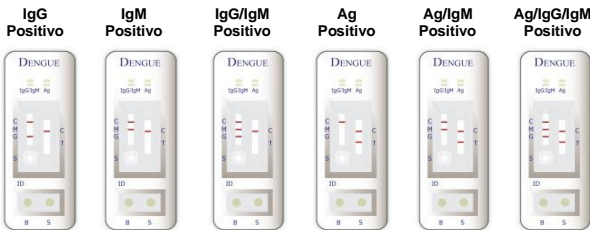
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. **RESULTADO NEGATIVO:**
Si solo se colorea la línea C, la ausencia de las líneas G, M o T indica que ni los anticuerpos anti-Dengue ni el antígeno NS1 del virus del Dengue están presentes. El resultado es Negativo o No-reactivo.

2. **INVALIDO:**
Si la línea C no se colorea, la prueba es inválida independientemente de que se colorea las demás líneas G, M o T. Se debe repetir la prueba en un nuevo casete.



3. **RESULTADO POSITIVO:**



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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

1. **El límite de Detección**
La Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM puede detectar la proteína NS1 en los 4 tipos del lisado del virus dengue I, II, III, y IV. El límite de detección es 0.25 ng/mL determinado con el antígeno NS1 recombinante del dengue del serotipo 2 (DENV2).
2. **Desempeño Clínico para la prueba de Ag**
Se recolectó un total de 350 muestras de sujetos susceptibles y sujetos de control sanos normales, y se analizaron mediante la Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM y mediante un ensayo comercial Dengue Ag ELISA. La comparación para todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla:

Prueba de Ag EIA	Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	117	0	117
Negativo	1	232	233
Total	118	232	350

Sensibilidad Relativa: 100% (95% CI: 96.8-100%)
Especificidad relativa: 99.6% (95% CI: 97.6-99.9%)
Acuerdo General: 99.7% (95% CI: 98.4-99.9%)

3. **Desempeño Clínico para la prueba de IgG**
Un total de 326 muestras de sujetos susceptibles, fueron evaluadas con la Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM y un ensayo comercial Dengue IgG EIA. La comparación se muestra en la siguiente tabla:

Prueba de IgG EIA	Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	36	1	37
Negativo	2	287	289
Total	38	288	326

Sensibilidad Relativa: 97.3% (95% CI: 86.2-99.5%)
Especificidad Relativa: 99.3% (95% CI: 97.5-99.8%)
Concordancia: 99.1% (95% CI: 97.3-99.7%)

4. **Desempeño Clínico para la prueba de IgM**
Un total de 314 muestras de sujetos susceptibles, fueron evaluadas con la Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM y un ensayo comercial Dengue IgM EIA. La comparación se muestra en la siguiente tabla:

Prueba de IgM EIA	Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	31	1	32
Negativo	3	279	282
Total	34	280	314

Sensibilidad Relativa: 96.9% (95% CI: 84.3-99.4%)
Especificidad Relativa: 98.9% (95% CI: 96.9-99.6%)
Concordancia: 98.7% (95% CI: 96.7-99.5%)

5. **Reactividad cruzada**
No se observaron resultados positivos falsos de dengue en Ag, IgG e IgM en 1-10 muestras positivas de los siguientes estados de enfermedad:

Chikunguña	CMV	VHA	VHB	VHC
VIH	hCG	H.pylori	TB	T. gondii
Tifoidea	Rubéola	ANA	HAMA	FR (hasta 8,400 IU/mL)

6. **Interferencia**
Sustancias comunes (como medicamentos para el dolor y la fiebre y componentes de la sangre) pueden afectar el rendimiento de la Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM. Esto fue estudiado mediante la adición de estas sustancias a muestras de suero positivas y negativas enriquecidas con antígeno dengue NS1, dengue IgG e IgM, respectivamente. Los resultados

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Las instrucciones dadas en las secciones "Procedimiento" e "Interpretación de los Resultados" deben seguirse cuidadosamente al evaluar la presencia de anticuerpos contra el dengue y de su antígeno NS1 en suero, plasma o sangre total. Cualquier falla en el procedimiento puede llevar a resultados erróneos.
- La Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM se limita a la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus del Dengue y su antígeno NS1 en suero, plasma o sangre total humanos. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación con el título de anticuerpos o de antígeno NS1 en la muestra.
- Esta prueba no brinda información sobre el serotipo(s) del virus del dengue presente en una muestra.
- Un resultado negativo o no-reactivo indica la ausencia de niveles detectables de anticuerpos contra el virus del dengue o el antígeno NS1, pero no excluye la posibilidad de exposición o infección con el virus del dengue.
- Un resultado negativo o no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos contra dengue o el antígeno NS1 del dengue presentes en la muestra son inferiores al límite de detección de la prueba, o si los anticuerpos o antígeno detectados no están presentes en el estado de la infección cuando es recolectada la muestra. Por ejemplo, algunos pacientes no producen niveles detectables de IgM durante fases tempranas de la infección primaria o infecciones repetidas.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y la Prueba Rápida OnSite Duo Dengue Ag-IgG/IgM da resultado negativo o no-reactivo, es recomendable ensayar con otro método, como PCR o ELISA.
- Algunas muestras que contengan títulos inusualmente altos de anticuerpos heterofílicos o factor reumatoideo pueden afectar los resultados.
- Los resultados obtenidos deben ser interpretados junto con otros métodos diagnósticos y la sintomatología del paciente.

REFERENCIAS

- Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. Emerg Infect Dis 1995;1(2):55-7.
- Gubler DJ, Trent DW. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. Infect Agents Dis 1993; 2:383-93.
- Monath TP. Dengue: the risk to developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci U S A 1994;91:2395-400.
- Price DD, Wilson SR, "Severe Dengue Infection." Medscape Reference Drugs, Diseases & Procedures, May 2011. Web. http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm.
- Innis BL, and Nisalak A, et al: An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. Am J Trop Med Hygiene 1989; 40: 418-27.
- Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997.
- Alcon S, Talarmin A, Debruyne M., et al: Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. J Clin Microbiol, 2002, 40: 376-81.

Índice de Símbolos

	Consulte las instrucciones de uso		Solo para uso diagnóstico in vitro		Fecha de vencimiento
	Número de catálogo		Número de lote		Ensayos por kit
	Almacenar entre 2-30°C		Representante autorizado		No reutilizar
	Fabricante		Fecha de manufactura		

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

PI-R0062C-Spanish Rev. L
Fecha de publicación: 2020-06-08
Versión en Español

Solo para exportación. No para ser comercializado en los EE. UU.



www.medibac.com