

USO DE LA PRUEBA

La prueba rápida de Dengue IgG/IgM (sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección de anticuerpos contra el dengue y para la detección del antígeno Dengue NS1 en sangre total, suero o plasma.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El dengue es un flavivirus, transmitido por los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Se distribuye ampliamente en las áreas tropicales y subtropicales del mundo¹ y causa hasta 100 millones de infecciones al año². 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 causa que los anticuerpos IgM aumenten a un nivel detectable en 3 a 5 días después del inicio de la fiebre. Los anticuerpos IgM generalmente persisten durante 30 a 90 días³. La mayoría de los pacientes con dengue en regiones endémicas tienen infecciones secundarias⁴, lo que resulta en altos niveles de anticuerpos IgG específicos antes o simultáneamente con la respuesta IgM⁵. Por lo tanto, la detección de anticuerpos anti-Dengue IgM e IgG específicos también puede ayudar a distinguir entre infecciones primarias y secundarias.

NS1 es una de las 7 proteínas no estructurales del virus del dengue que se cree que participan en la replicación viral. NS1 existe como un 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 hexámero 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. La prueba rápida de Dengue IgG/IgM (sangre total/suero/plasma) es una prueba rápida que utiliza una combinación de partículas coloreadas recubiertas con antígeno de dengue para la detección de anticuerpos IgG e IgM de dengue en sangre total, suero o plasma humano.

La prueba rápida Dengue NS1 (sangre total/suero/plasma) es una prueba rápida que utiliza una combinación de partículas de color recubiertas con anticuerpos contra Dengue para la detección del antígeno Dengue NS1 en sangre total, suero o plasma humano.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Dengue IgG/IgM

La prueba rápida de Dengue IgG/IgM (sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección de anticuerpos contra el dengue y para la detección del antígeno Dengue NS1 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 partículas recubiertas de antígeno de dengue en el casete de prueba. La mezcla luego migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente 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 IgM antihumana.

Los anticuerpos IgM de dengue, si están presentes en la muestra, reaccionan con la IgM antihumana y las partículas recubiertas de antígeno de dengue en el casete de prueba, y este complejo es capturado por la IgM antihumana, formando una línea coloreada en la región de línea de prueba.

Por lo tanto, si la muestra contiene anticuerpos dengue IgG, aparecerá una línea de color en la región de la línea de prueba de IgG. Si la muestra contiene anticuerpos IgM de dengue, aparecerá una línea de

color en la región de la línea de prueba de IgM. Si la muestra no contiene anticuerpos contra el dengue, no aparecerá una línea de color en ninguna de las regiones de la línea de prueba, lo que indica un resultado negativo. Para servir como control de 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 se ha producido la absorción de la membrana.

Dengue NS1

La prueba rápida Dengue NS1 (sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección del antígeno Dengue NS1 en sangre total, 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 anticuerpos de oro se unirá al antígeno Dengue en la muestra de muestra que a su vez se unirá con NS1 Anti-Dengue recubierto en la membrana. A medida que el reactivo se mueve a través de la membrana, el anticuerpo Dengue NS1 en la membrana se unirá al complejo anticuerpo-antígeno causando que se forme una línea rosa pálida u oscura 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 rosa en la región de prueba debe considerarse como un resultado positivo.

PRESENTACION

1. Caja con 10 pruebas.
2. Buffer.
3. Instructivo de uso.

MATERIALES INCLUIDOS POR SOBRE METALIZADO

1. Casete empacado individualmente.
2. Pipeta.
3. Desecante.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Almacene como está empaquetado en la bolsa sellada a temperatura de 2-30°C. La prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No lo use más allá de la fecha de vencimiento.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

1. El casete de prueba rápida Dengue Combo se puede realizar con sangre total (por punción venosa o punción digital), suero o plasma.
2. Para recolectar muestras de sangre total de punción digital:
3. Lave la mano del paciente con jabón y agua tibia o límpiela con un algodón con alcohol. Dejar secar.
4. Masajee la mano sin tocar el sitio de punción frotando la mano hacia la punta del dedo medio o anular.
5. Perfore la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera señal de sangre.
6. Frote suavemente la mano de la muñeca a la palma de la mano al dedo para formar una gota de sangre redondeada sobre el sitio de punción.
7. Agregue la muestra de sangre total de punción en el dedo al casete de prueba usando un gotero o una micropipeta de 10 µl. El gotero provisto con la prueba dispensa aproximadamente 10 µl en una gota, incluso si se aspira más sangre en el gotero.
8. Separe el suero o el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo muestras transparentes, no hemolizadas.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Permita que la prueba, la muestra, el buffer y/o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba.

- Permita que la bolsa llegue a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y úselo lo antes posible.
- Coloque el casete sobre una superficie limpia y nivelada.

Dengue IgG/IgM:

Para muestras de suero o plasma:

- Para usar un cuentagotas: sostenga el cuentagotas verticalmente, tome la muestra hasta la línea de llenado (aprox. 5µL), y transfiera la muestra al pocillo de muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de buffer (aprox. 40µL) e inicie el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el pozo de muestra.
- Para usar una micropipeta: Pipete y dispense 5µL de suero o plasma al pocillo de muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de buffer (aprox. 40 µL) e inicie el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el pozo de muestra.

Para muestras de sangre total (venopunción):

- Para usar una pipeta: sostenga la pipeta verticalmente, extraiga la muestra aproximadamente 1 cm por encima de la línea de llenado y transfiera 1 gota de sangre total (aproximadamente 10 µL) al pocillo de muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador.
- Para usar una micropipeta: Pipete y dispense 10 µL de sangre total al pocillo de la muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40µL) e inicie el temporizador.
- Espere a que aparezcan las líneas de color. Lea los resultados a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.

Dengue NS1:

Para muestras de suero o plasma:

Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 3 gotas de suero o plasma (aproximadamente 75µL) al pocillo de la muestra del casete de prueba e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación. Para muestras de sangre total de venopunción

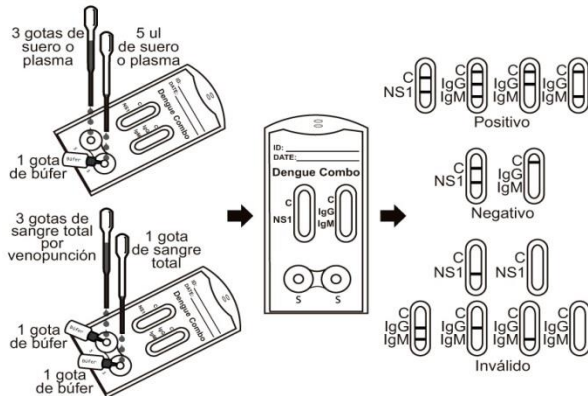
Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 3 gotas de sangre total (aproximadamente 75 µL) al pocillo de la muestra, luego agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40µL) e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación.

Para la muestra de sangre total de punción digital:

Para usar un tubo capilar: llene el tubo capilar y transfiera aproximadamente 75 µL de muestra de sangre total con punción digital al área de la muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40µL) y comience el temporizador. Vea la ilustración a continuación.

Para usar punción digital: permita que caigan 3 gotas colgantes de la muestra de sangre total con punción digital (aproximadamente 75µL) en el área de la muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40µL) e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación.

Espere a que aparezcan las líneas de color. Lea los resultados a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Dengue IgG / IgM

IgG e IgM POSITIVO: * Aparecen tres líneas. 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 en 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 y es indicativo de infección secundaria por dengue.

IgG POSITIVO: * Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparece en la región de la línea de prueba de IgG. El resultado es positivo para el virus Dengue específico-IgG y probablemente sea indicativo de infección secundaria por Dengue.

IgM POSITIVO: * Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparece en la región de la línea de prueba de IgM. El resultado es positivo para el virus del dengue específico-IgM y es probablemente indicativo de infección primaria por dengue.

* NOTA: La intensidad del color en las regiones de línea de prueba IgG y / o IgM (T) variará dependiendo de la concentración de anticuerpo Dengue presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en las regiones de línea de prueba IgG y / o IgM (T) debe considerarse positivo.

NEGATIVO: aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de línea de prueba IgG e IgM (T). Un resultado negativo indica que el anticuerpo contra el dengue no está presente en la muestra, o está presente por debajo del nivel detectable de la prueba.

NO VÁLIDO: la línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, interrumpa el uso de la prueba de diagnóstico inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

Dengue NS1

POSITIVO: * Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de prueba (T). Un resultado positivo indica que se detectó Dengue NS1 en la muestra.

* NOTA: La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de Dengue NS1 presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de línea de prueba (T) debe considerarse positivo.

NEGATIVO: aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de línea de prueba (T). Un resultado negativo indica que Dengue NS1 no está presente en la muestra, o está presente por debajo del nivel detectable de la prueba.

NO VÁLIDO: la línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, interrumpa el uso de la prueba de diagnóstico inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- El casete de prueba rápida Dengue en Combo (sangre total/suero/plasma) solo indicará la presencia de antígeno Dengue NS1 y anticuerpos Dengue en la muestra y no debe usarse como el único criterio para el diagnóstico de Dengue.
- El procedimiento de prueba y la interpretación del resultado de la prueba deben seguirse de cerca al evaluar la presencia de dengue Ag en suero o plasma de sujetos individuales. No seguir el procedimiento puede dar resultados inexactos.
- Un resultado negativo de la prueba para Dengue NS1 no excluye la posibilidad de exposición o infección con virus del dengue.
- Se puede producir un resultado negativo para el dengue NS1 si la cantidad de Ag dengue presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si el Ag dengue detectado no está presente durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge una muestra.

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. Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481.
2. 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.
3. Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. Rev. Med. Micro. 1995; 6:39-48.

