

INSTRUCTIVO DE USO

SD BIO LINE Dengue Duo
Dengue NS1 Ag + Ab Combo

Explicación de la prueba

Los virus del dengue transmitidos por el mosquito, *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, están ampliamente distribuidos al lo largo de las áreas tropicales y sub-tropicales del mundo. Hay cuatro serotipos conocidos distintos (virus dengue 1, 2, 3 y 4). En niños la infección con frecuencia es subclínica o causa una enfermedad febril autolimitada. De cualquier manera, si el paciente es infectado por segunda ocasión con un serotipo diferente, una enfermedad más severa, fiebre de dengue hemorrágico o shock por el síndrome del dengue se puede presentar. El dengue es considerado como la enfermedad viral más importante originada por artrópodos debido a la mortalidad y morbilidad humana que causa. NS1 es una glicoproteína altamente conservada que está presente en altas concentraciones en los sueros de pacientes infectados con dengue durante la fase clínicamente temprana de la enfermedad. El antígeno NS1 es encontrado a partir del primer día y hasta nueve días después del ataque de fiebre en la muestra de pacientes infectados por primera o segunda vez por dengue. Usualmente la IgM no es detectable hasta cinco días después del inicio de la enfermedad de los casos de infección primaria por dengue y cinco días después del inicio de la enfermedad en infecciones secundarias. En infecciones primarias, la IgG aparece hacia el día catorce y persiste de por vida. Las infecciones secundarias muestran elevaciones de IgGs a partir del día uno o dos del inicio de los síntomas e induce una respuesta de IgM después de veinte días de infección.

[Uso propuesto]

La prueba rápida SD BIOLINE Dengue Duo es un ensayo in Vitro inmunocromatográfico de un paso diseñado para detectar tanto el antígeno NS1 del virus del dengue como los anticuerpos diferenciales IgG/IgM para el virus del dengue en plasma o suero humano. Esta prueba rápida SD BIOLINE Dengue Duo contiene dos dispositivos de prueba (lado izquierdo; prueba del Ag NS1 del dengue, lado derecho; prueba de IgG/IgM para dengue). La prueba rápida de Ag NS1 para dengue en el lado izquierdo es una prueba de un paso in Vitro inmunocromatográfica diseñada para la determinación cualitativa del antígeno NS1 del virus del dengue en suero humano, o plasma para el diagnóstico de la infección inicial de la enfermedad. Este dispositivo de prueba contiene un antígeno recombinante de la cubierta del virus del dengue (T) y forma una línea visible como el complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo partícula de oro. La prueba rápida de IgG/IgM para dengue en el lado derecho es un ensayo inmunocromatográfico de fase sólida para la detección rápida, cualitativa y diferencial de los anticuerpos IgG e IgM para el virus del dengue en suero humano. Esta prueba es una prueba de un paso in Vitro inmunocromatográfica diseñada para la detección de la infección primaria y secundaria de dengue. Esta prueba rápida SD BIOLINE Dengue Duo provee solamente un resultado preliminar. Por lo tanto, el aislamiento de los virus, la detección del antígeno en tejidos fijados, RT-PCR y la prueba serológica como la prueba de inhibición por hemaglutinación, método para diagnóstico más específico debe ser usada para obtener una confirmación de la infección por el virus del dengue.

[Principio]

La ventana de resultados del equipo de prueba Ag NS1 para dengue tiene dos líneas precubiertas, "T" (línea de prueba Ag NS1) y "C" (línea de control). Tanto la línea de prueba como la línea de control no son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar cualquier muestra. La línea de control es usada para el control del procedimiento y debería aparecer siempre si el procedimiento de la prueba es realizado correctamente. El Ag NS1 para dengue puede identificar antígeno NS1 para dengue en muestras de suero o plasma con un alto grado de sensibilidad y especificidad. La prueba rápida de IgG/IgM está diseñada para detectar diferencialmente anticuerpos IgG e IgM para el virus del dengue en suero o plasma humano. Esta prueba también puede detectar cuatro serotipos de dengue por medio del uso de una mezcla de proteínas recombinantes de la cubierta del virus del dengue. El equipo de prueba IgG/IgM para dengue tiene tres líneas precubiertas "G" (línea de prueba de IgG dengue), "M" (línea de prueba de IgM dengue) y "C" (línea de control) en la superficie del dispositivo. Las tres líneas en la ventana de resultados no son visibles antes de aplicar cualquier muestra. La "línea de control" es usada para el control del procedimiento. La línea de control debería aparecer siempre si el procedimiento de la prueba es realizado adecuadamente y lo reactivos de la prueba de la línea de control están funcionando. Unas líneas púrpuras "G" "M" serán visibles en la ventana de resultados si hay suficientes anticuerpos IgG y/o IgM para el virus del dengue en la muestra. Si no hay anticuerpos IgG y/o IgM para el virus del dengue en la muestra aparecerá color en "G" y/o "M". Cuando una muestra es añadida al pozo de muestras, los IgGs e IgMs anti-dengue en la muestra reaccionarán con los conjugados de oro coloidal y los proteínas recombinantes de la cubierta del virus del dengue y forman un complejo de anticuerpos-antígeno. Como este complejo migra a lo largo de la longitud del dispositivo de prueba por acción capilar, será capturado por IgG antihumano y/o IgM antihumano inmovilizados en dos líneas de pruebas a través del dispositivo de prueba y generan una línea de color.

Materiales provistos/ingredientes activos de los principales componentes.

- El equipo SD BIOLINE Dengue Duo contiene los siguientes artículos para realizar el ensayo.
 - Dispositivo combo que incluye IgG/IgM para dengue y Ag NS1 para dengue.
 - Diluyente del ensayo para la prueba IgG/IgM dengue.
 - Pipeta capilar de 5 µl, para la prueba IgG/IgM dengue
 - Gotero para la prueba Ag NS1 dengue
 - Instructivo de uso.
- Ingredientes activos de los principales componentes.**
- Una tira de prueba incluye; conjugados de oro (como componente principal): Oro coloidal-NS1 antígeno monoclonal de ratón (0.27 µg.), Línea de prueba (como componente principal): NS1 antígeno monoclonal del ratón (0.72 +/- 0.14 µg.). Línea de control (como componente principal): IgG de chivo anti-ratón (0.72 +/- 0.14 µg.).
 - [SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]
 - Una tira de prueba incluye; conjugado de oro (como componente principal): Oro coloidal-proteína recombinante de la cubierta del virus del dengue (1 +/- 0.2 µg.), Línea de prueba "G" (como componente principal): IgG antihumano monoclonal de ratón (5 +/- 1 µg.), Línea de prueba "M" (como componente principal): IgM antihumano monoclonal de ratón (5 +/- 1 µg.), Línea de control (como componente principal): IgG antígeno de conejo (2.5 +/- 0.5 µg.).
 - Amortiguador de ensayo en solución; 100 mM amortiguador de fosfatos (5mM), azida de sodio (0.01% w/w).

Estabilidad y almacenamiento del kit

La prueba rápida SD BIOLINE Dengue Duo debe almacenarse a temperatura ambiente. La tira de prueba es sensible a la humedad así como al calor. Realice la prueba inmediatamente después de retirar la tira de prueba de la bolsa de aluminio. No use después de la fecha de caducidad.

Colecta de la muestra y almacenamiento

- Sangre total
 - Recolectar la sangre total en un tubo de recolección (utilizando el anticoagulante adecuado como heparina, EDTA o Citrato de Sodio) por punción venosa.
 - Si las muestras no se sometieron inmediatamente a prueba deberán refrigerarse a 2~8°C.
 - Cuando está almacenada de 2-8°C, las muestras de sangre deben ser usadas hasta por 3 días.
 - Para periodos de almacenamiento mayores a 3 días, se recomienda la congelación. Las muestras deben alcanzar temperatura ambiente (1-30°C) antes de su uso.
 - El uso de muestras de sangre almacenadas por periodos largos de tiempo mayores a 3 días pueden causar reacción no específica.
- Plasma or Serum
 - [Plasma] Colecte sangre en un tubo para colecta (que contenga anticoagulantes tales como la heparina, EDTA y citrato de sodio) por medio de minipuntura y después centrifugue la sangre para obtener la muestra de plasma.
 - [Suero] Colecte la sangre en un tubo de muestra (SIN anticoagulantes tales como heparina, EDTA y citrato de sodio) por medio de minipuntura, deje reposar por 30 minutos para la coagulación de la sangre y después centrifugue para obtener la muestra de suero del sobrenadante.
 - Si las muestras de suero o plasma no son probadas inmediatamente, deberían refrigerarse de 2 a 8 °C. Para almacenamientos mayores a dos semanas, se recomienda congelar. Ellas deberán ser llevadas a temperatura ambiente (de 1 a 30°C) antes de usarse.
 - Las muestras de suero o plasma que contienen un precipitado pueden producir resultados inconsistentes. Tales muestras deben ser clarificadas antes de analizarse.
 - Use pipetas capilares desechables o puntas de pipeta desechables.

Advertencias

- Solamente para uso diagnóstico invitro. NO REUSAR el dispositivo de prueba. No comer o fumar mientras que maneja las muestras.
- Use guantes protectores mientras que maneja las muestras. Después lave las manos completamente. Evite la formación de aerosoles y salpicaduras.
- Limpie las salpicaduras completamente con un desinfectante adecuado.
- Descontamine y deseché todas las muestras, los equipos de reacción y los materiales potencialmente como si fueran desperdicios infecciosos en un contenedor para bio-riesgos.
- No use el dispositivo de prueba si el empaque está dañado o el sello está roto.
- Las instrucciones deben ser seguidas exactamente para obtener resultados precisos.

Procedimiento de la prueba (Referirse a la figura del procedimiento de la prueba)

[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag].

- Retire el dispositivo de muestra del empaque de aluminio y colóquela en una superficie plana y seca.
- Con un gotero desechable, añada 3 gotas (cerca de 100 µl) de muestra en el pozo de muestra (S).
- Complárese con la muestra afunccionar, verá moverse color púrpura a través de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de la prueba.
- Interprete los resultados de la prueba a los 15-20 minutos.
- Un resultado positivo no cambiará una vez que ha sido establecido a los 15-20 minutos. De cualquier modo, para prevenir cualquier resultado incorrecto, el resultado de la prueba no deberá ser interpretado después de 20 minutos.

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]

- Deje que todos los componentes del equipo y la muestra estén a temperatura ambiente antes de probarlos.
 - Retire el dispositivo de prueba del empaque de aluminio y colóquelo en una superficie plana y seca.
 - Con una pipeta capilar de 10 µl, añada 10 µl de la muestra de suero o plasma en la línea negra dibujada dentro del pozo de muestra cuadrado marcado con "S".
 - Añada 4 gotas (cerca de 90-120 µl) del diluyente del ensayo en el pozo de forma redonda.
 - Interprete los resultados de la prueba a los 15-20 minutos.
- Precaución: No leer los resultados de la prueba después de 20 minutos. La lectura demasiado tardía puede dar resultados falsos.

Interpretación de la prueba (Referirse a la figura de interpretación)

[SD BIOLINE Dengue NS1 Ag]

Resultado negativo: La presencia de una línea de color dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.
Resultado positivo: La presencia de dos líneas de color (banda "T" y "C") dentro de la ventana de resultados, no importa cual línea aparezca

primero, indica un resultado positivo.

Resultado inválido: Si no es visible la línea de color dentro de la ventana de resultados después de realizarla prueba se considera el resultado inválido.

Las instrucciones pueden no haberse seguido correctamente o la prueba puede haberse deteriorado. Se recomienda que la muestra sea re-analizada.

[SD BIOLINE Dengue IgG / IgM]

Negativo

Solamente es visible la línea de control en el dispositivo de prueba. No se detectaron anticuerpos IgG/IgM. Repita la prueba en 3-5 días si se sospecha de infección por dengue.

IgM positivo

La línea de control (C) y la línea IgM (M) están visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infección primaria de dengue.

IgG positivo

La línea de control (C) y la línea IgG (G) están visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgG para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infección secundaria o anterior de dengue.

IgG e IgM positivo

La línea de control (C), la línea IgM (M) e IgG (G) están visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM e IgG. Esto es indicativo de una infección por dengue primaria tardía o secundaria temprana.

Inválido

La línea de control no aparece. Volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Repita la prueba usando un nuevo dispositivo de prueba.

Limitaciones de la prueba

- Un resultado negativo puede presentarse si la cantidad de antígeno NS1 del virus del dengue presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o los antígenos que son detectados no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la cual la muestra fue colectada. Un resultado positivo de la prueba no puede excluir una infección reciente.
- La presencia de Ag NS1 del virus del dengue puede ser positiva para una infección temprana de dengue.
- Como todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben de ser considerados junto con la información clínica disponible para el médico.
- En infecciones iniciales o algunas infecciones secundarias los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Algunos pacientes no pueden producir niveles detectables de anticuerpos en los primeros 7 a 10 días después de la infección. Cuando los síntomas persisten, los pacientes deben de ser reprobados 3 a 4 días después de la primera muestra.
- Reactividad cruzada serológica con el grupo de flavivirus (virus del dengue, encefalitis japonesa, virus de la fiebre amarilla y del Nilo del Oeste) es común.

Control de calidad interno

El dispositivo de prueba SD BIOLINE NS1 Ag tiene "línea de prueba", "línea de control" en la superficie del cassette. Y el dispositivo de prueba SD BIOLINE Dengue IgG/IgM tiene "G (línea de prueba IgG Dengue)", "M (línea de prueba IgM Dengue)" y "C (línea de control)". Todas las líneas de prueba y la línea de control no son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar cualquier muestra. La línea de control es usada para el control del procedimiento. La línea de control debería aparecer siempre si el procedimiento de la prueba es realizado adecuadamente y los reactivos de la prueba de la línea de control están funcionando.

Valor esperado

El NS1 es esperado que sea detectado un día después de la aparición de la fiebre y persista hasta los nueve días tanto en las infecciones primarias como secundarias de dengue. Pero si son producidos anticuerpos anti-NS1, la detección de NS1 es inhibida. El dengue primario se caracteriza por la presencia de IgM detectable de 3 a 5 días después del inicio de la infección. El dengue secundario se caracteriza por la elevación de IgG específico 1 a 2 días después del inicio de la infección y en la mayoría de los casos es acompañada por una elevación de IgM.

Características de rendimiento

- Sensibilidad y Especificidad de Ag NS1 dengue.
Las muestras usadas en esta prueba fueron confirmadas por RT-PCR y/o cultivo viral.

		RT-PCR y/o Cultivo Viral		Total
		Positivo	Negativo	
SD Dengue NS1 Ag	Positivo	104	3	107
	Negativo	8	186	194
	Total	112	189	301

*Sensibilidad = 104/112 x 100 = 92.8%, Especificidad = 186/189 x 100 = 98.4%

Sensibilidad y Especificidad de IgG/IgM Dengue
La comparación de resultados de la prueba SD BIOLINE Dengue IgG/IgM con la prueba de Inhibición por Hemaglutinación (IH) mostró que la prueba SD BIOLINE Dengue IgG/IgM tiene buena correlación con la prueba IH.

		Prueba de Referencia: IH		Total
		Positivo	Negativo	
SD Dengue IgG/IgM	Positivo	159	3	162
	Negativo	1	39	40
	Total	160	42	202

*Sensibilidad = 159/160 x 100 = 99.4%, Especificidad = 39/42 x 100 = 93%

Técnica usada	Núm. de muestras probadas	Solo positivo a IgM	Solo positivo a IgG	positivo a IgG+IgM	Total IgM positivo	Total IgG positivo	Negativos
MAC-ELISA	202	39	45	76	115	121	42
Comercial rápida	202	41	88	32	73	120	41
SD Dengue IgG/IgM	202	33	21	108	141	129	40

- Sensibilidad el SD Dengue Duo relacionada a la aparición de signos clínicos.

	Días después del inicio de síntomas	Núm. de muestras	Núm. de muestras positivas				
			Anticuerpos IgG	Anticuerpos IgM	Anticuerpos Total (*1)	Ag NS1	Resultado Final (*2)
1er.	1~7	52	9 (17.3)	21 (40.4)	23 (44.2)	43 (82.7)	49 (94.3)
	8~14	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)
	15~21	36	35 (97.2)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)	36 (100)
2do.	1~7	36	24 (66.7)	8 (22.2)	24 (66.7)	24 (66.7)	32 (88.9)
	8~14	34	34 (100)	18 (53)	34 (100)	14 (41.2)	34 (100)
	15~21	42	42 (100)	24 (57.2)	42 (100)	3 (7.2)	42 (100)

*1: IgG y/o IgM Dengue *2: NS1 Dengue y/o anticuerpos IgG/IgM Prueba de reactividad cruzada con otros Flavivirus transmitidos por mosquitos.

Enfermedad	IgM Dengue Negativo/Tot al	IgG Dengue Negativo/Tot al	Ag NS1 Dengue Negativo/Total
Encefalitis Japonesa	25/25	25/25	25/25
Fiebre amarilla	25/25	25/25	25/25
Malaria P. falciparum	25/25	25/25	25/25
Malaria P. vivax	25/25	25/25	25/25
Total	100/100	100/100	100/100

- Precisión : Las precisiones intra e intercorridas han sido determinadas por la prueba de diez muestras, tres veces: 7 de negativos, 6 positivos débiles, 6 positivos medios y 6 positivos fuertes. 6. Todos los valores fueron colectivamente identificados al 100%.
- Para evaluar la interferencia del equipo rápido de Dengue duo con muestras conocidas relevantes interferentes, se investigaron las muestras hemolíticas, las muestras que contienen factores reumatoides y lipémicas, las muestras ictericas. En estos estudios, aquellas muestras no interfirieron con este equipo de prueba.
- Sensibilidad analítica: el límite de detección: la cantidad más pequeña del marcador blanco que puede ser precisamente detectado, ha sido igual o superior a una prueba líder comercial para la detección de anticuerpos y AgNS1 para Dengue.

Bibliografía de lecturas sugeridas

- Prior MJ, Wright PJ. The effects of site-mutagenesis on the dimerization and secretion of the NS1 protein specified by dengue virus. *Virology* 1993; 194: 768-80.
- SHU, P. HUANG, J. Current advances in dengue diagnosis. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 2004 Jul; 11(4): 642-50.
- Alcon S., Talamin A., Debyrne M., Falconar A., Deubel V., Falmard M. 2002. enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 non structural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J. Clin. Microbiol.* 40: 376-381.
- Jan Groen et al. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue virus specific immunoglobulin M and G antibodies. *Clin. J. Diag. Lab. Immunol.* Vol 7(6) p. 867-871, 2000.

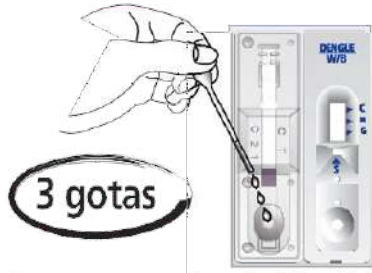
www.chggroup.com.mx/pruebas/covid

Juan Palomar y Arias #616 Planta Alta
Col. Prados Providencia C.P. 44670
Guadalajara, Jal. Tel: (33) 2400 8540



SD BIOLINE Dengue NS1 Ag + Ab Combo Test

[Dengue NS1 Ag]

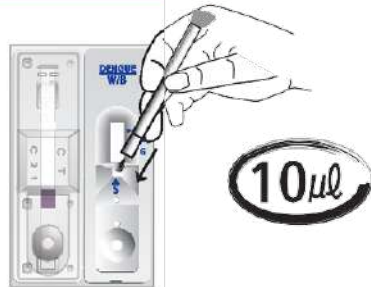


3 gotas
Con un gotero **desechable**, añada 3 gotas (cerca de 100µl) de muestra en el pozo de muestra (S).

Interprete los resultados de la prueba a los 15-20 minutos.



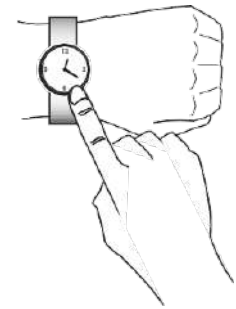
[Dengue IgG / IgM]



10µl
Con una pipeta capilar de 10µl, añada 10µl de la muestra de suero o plasma en la línea negra dibujada dentro del pozo de muestra cuadrado marcado con "S"



4 gotas
Añada 4 gotas (cerca de 90-120µl) del diluyente del ensayo en el pozo de forma redonda.



Interpretación

[Dengue NS1 Ag]

Resultado negativo:
La presencia de una línea de color dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.

Resultado positivo:
La presencia de dos líneas de color (banda "T" y "C") dentro de la ventana de resultados, no importa cual línea aparezca primero, indica un resultado positivo.

Resultado inválido:
Si no es visible la línea de color dentro de la ventana de resultados después de realizar la prueba se considera el resultado inválido.

[Dengue IgG / IgM]

Positivo

1. IgM positivo
La línea de control (C) y la línea IgM (M) están visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infección primaria de dengue.

2. IgG positivo
La línea de control (C) y la línea IgG (G) están visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgG para el virus del dengue. Esto es indicativo de una infección secundaria o anterior de dengue.

IgG e IgM positivo
La línea de control (C), la línea IgM (M) e IgG (G) están visibles en el dispositivo de prueba. Esto es positivo para los anticuerpos IgM e IgG. Esto es indicativo de una infección por dengue primaria tardía o secundaria temprana.

Resultado negativo:
Solamente es visible la línea de control en el dispositivo de prueba. No se detectaron anticuerpos IgG/IgM. Repita la prueba en 3-5 días si se sospecha de infección por dengue.

Inválido
La línea de control no aparece. Volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Repita la prueba usando un nuevo dispositivo de prueba.

