

CORTEZ DIAGNOSTICS, INC.
23961 Craftsman Road, Suite E/F,
Calabasas, CA 91302 USA
Tel: (818) 591-3030 Fax: (818) 591-8383
E-mail: onestep@rapidtest.com
Web site: www.rapidtest.com

Véase etiqueta externa 2°C-30°C Σ=25 or 50 tests Cat. #173106P-25

Dengue IgG/IgM
Cat. No. 173106P-25

Para la detección diferencial de los anticuerpos IgG y/o IgM contra el virus del dengue en suero o sangre completa.

USO PREVISTO:

El dengue IgM e IgG Combo Rapid Test de **Cortez Diagnostics Inc.**, es una prueba cualitativa para la detección de anticuerpos de tipo IgM e IgG del virus del dengue, en suero humano, plasma o sangre completa. La prueba permite la detección diferencial de anticuerpos de tipo IgM e IgG contra el dengue, y puede ser usado para la presunta distinción entre una infección de dengue primaria ó secundaria. Esta prueba es solamente para diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN:

El virus del dengue, pertenece al grupo de los Flavavirus, en cuanto a morbilidad y mortalidad, es una de las más importantes enfermedades transmitidas por mosquitos en el mundo. Es transmitida principalmente por los mosquitos **Aedes aegypti** y **Aedes albopictus**, el virus se consigue comúnmente en regiones del trópico y regiones sub tropicales del mundo. Se conocen cuatro serotipos diferentes del dengue. Los síntomas del dengue incluyen, fiebre alta, dolor de cabeza, dolor muscular y erupción cutánea. Las complicaciones más frecuentes asociadas a esta enfermedad son: dengue hemorrágico, o síndrome de shock por dengue.

La respuesta inmune asociada a este virus incluye la producción de anticuerpos IgM al 5to día de los síntomas, los cuales permanecen en el sistema circulatorio de 30 a 60 días. Los anticuerpos IgG aparecen el día 14 de la infección y persisten de por vida. Una infección secundaria a menudo resulta en fiebre alta y en muchos casos eventos hemorrágicos iniciales y fallas circulatorias. Una infección secundaria también induce una respuesta de anticuerpos IgM después del día 20 de infección y un aumento de los anticuerpos IgG dentro del 1-2 día después del inicio de los síntomas. Por lo tanto, los pacientes con infecciones secundarias tendrán usualmente un resultado positivo para IgG, con resultados positivos para IgM también. Así, el uso de una prueba serológica rápida, fiable y sensible que a la vez puede detectar la presencia de anticuerpos anti-dengue IgG e IgM es de gran utilidad clínica.

La prueba rápida de Cortez Diagnostics, INC; ofrece una excelente metodología para detectar específicamente anticuerpos IgG e IgM contra el dengue. La presencia de altos títulos de anticuerpos de tipo IgG en la muestra no interfiere con la detección de anticuerpos de tipo IgM. Al utilizar una

mezcla de proteínas altamente purificadas del dengue, la prueba es capaz de detectar los 4 serotipos del dengue.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA:

Muestras de suero, plasma ó de sangre completa pueden ser usadas en esta prueba. Cuando la muestra es agregada en el test, los anticuerpos IgG e IgM presentes en la muestra reaccionan con las partículas azules recubiertas con proteínas de la envoltura del dengue. Como está mezcla partícula/espécimen migra a lo largo de la prueba, los complejos anticuerpos IgG ó IgM anti-dengue son capturados por la banda IgG ó IgM correspondiente localizadas en la ventana del dispositivo, formando una banda pálida de color azul oscuro, para formar una región IgG ó IgM en la ventana de prueba del dispositivo. La intensidad de las bandas variará dependiendo de la cantidad de anticuerpo presente en la muestra. La aparición de cualquier color en una región específica de la prueba (IgG ó IgM) debe ser considerada positiva para ese tipo de anticuerpo en particular (IgG ó IgM). Una línea roja correspondiente al control del procedimiento siempre se debe desarrollar en la ventana de prueba del dispositivo para indicar que esta se ha realizado correctamente.

PRECAUCIONES:

1. Todos los especímenes deben ser manejados como si fueran altamente infecciosos. Los Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) y los Institutos Nacionales de la Salud (NIH) recomiendan que todos los agentes potencialmente infecciosos deben ser manejados con un Nivel 2 de Seguridad Biológica.
2. Los procedimientos de descontaminación biológica deben seguirse para todos los equipos, contenedores, superficies, etc. Que entren en contacto con especímenes potencialmente infecciosos. Todos los artículos desechables que entren en contacto con estas muestras deben ser descartados como desechos infecciosos.
3. Para mejores resultados, es requiere la estricta adherencia a estas instrucciones. Sea cuidadoso/a de no tocar la punta de la botella del tampón con el tubo de la muestra, al añadir el tampón al tubo. Esto minimizara en gran medida la probabilidad de contaminar el tampón reactivo.
4. El tampón contiene como preservativo una baja concentración de azida de sodio (**menos que 0.1 %**). El azida de sodio es tóxico. No beba este tampón. Altas concentraciones de azida de sodio también pueden reaccionar con el plomo y el cobre de las tuberías formando compuestos explosivos. Si desecha este tampón por el drenaje, active el bajante con excesivas cantidades de agua para minimizar la acumulación de materiales potencialmente explosivos.
5. No use los dispositivos del test o prueba o tampón de lavado luego de la fecha de vencimiento marcada en la etiqueta del empaque.
6. Almacenes los kits de prueba y los reactivos de acuerdo al rango de temperatura indicada en la etiqueta del empaque.
7. Todos los dispositivos de la prueba, tampones y especímenes deben estar a temperatura ambiente (**15-30°C**) antes de comenzar la prueba/análisis.
8. No re-use los dispositivos de la prueba ó tampones.

ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL DE LOS REACTIVOS:

Almacene el kit entre **2°C y 30°C**. No almacene el kit a luz solar directa. Asegúrese de abrir sólo el número de dispositivos a usar. Una vez que el empaque del dispositivo ha

sido abierto, el dispositivo de la prueba debe ser usado de inmediato. El kit puede ser usado sólo hasta la fecha de expiración, la cual puede ser vista en la etiqueta de la prueba.

RECOLECCION DE ESPECIMENES:

1. Maneje todos los especímenes como si fuesen capaces de transmitir enfermedades infecciosas. Deseche todos los materiales que entren en contacto con el espécimen como desecho infeccioso.
2. Los especímenes deben ser recolectados asépticamente por venopuntura de acuerdo a los Estándares del Comité Nacional para Laboratorios Clínicos (NCCLS, sus siglas en inglés). El uso de muestras turbias o altamente lipémicas deben ser evitadas.
3. Las muestras de sangre completa deben ser utilizadas inmediatamente, si es posible. El NCCLS ha dictado recomendaciones para el almacenamiento especímenes de sangre (Estándar Aprobado – Procedimientos para el Manejo y Procesamiento de Especímenes de Sangre, HISA. 1990).
4. Si los especímenes de suero ó plasma no pueden ser ensayados inmediatamente, deben ser refrigerados de 2 a 8°C. Para periodos de almacenamiento mayores a 3 días, congele el espécimen a -20°C ó menos.

COMPONENTES DEL KIT:

Cada kit contiene los siguientes componentes en suficiente cantidad para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del empaque.

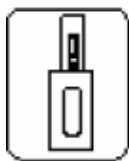
- 25 ó 50 dispositivos empacados en bolsas individuales. Cada dispositivo contiene dos (2) líneas de prueba: una que captura anticuerpos IgG humano y otra que captura anticuerpos IgM. El dispositivo también contiene una tercera línea de control del procedimiento.
- 1 Inserto
- 1 Botella de Tampón de Lavado de Dengue con gotero (5 ó 10 ml)
- 25 ó 50 asas de plásticos de 25 microlitro (μ l) para transferencia de muestras.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO INCLUIDOS:

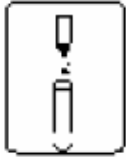
- Temporizador capaz de medir del **0 a 60 minutos**
- Tubos de ensayo

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA:

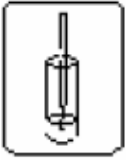
- Remover el número apropiado de dispositivos de Dengue de sus bolsas. Rompa la bolsa (s) y remueva el (los) dispositivo (dispositivos). Coloque el(los) dispositivo(s) de la prueba sobre una superficie limpia y lisa.



- Agregue 4 gotas (**100 uL**) del tampón de lavado del dengue en un tubo de ensayo de vidrio o plástico.



- Con un asa de plástico de **1µl**, limpia, sin uso (provista), sumerja la parte circular final del asa en el espécimen, luego cuidadosamente coloque el extremo circular del asa en el tubo de ensayo y revuelva el tampón con el asa. Esto agregará **1µl** de espécimen en el tampón. Remueva el asa y deséchela como peligro biológico. No use el asa de nuevo. Si usa una pipeta en vez del asa, agregue **1µl** de muestra directamente a los **100 µl** de tampón en el tubo de ensayo y vértice.



- Transferir el contenido del tubo de ensayo (muestra diluida) en el pozo de la muestra del dispositivo.

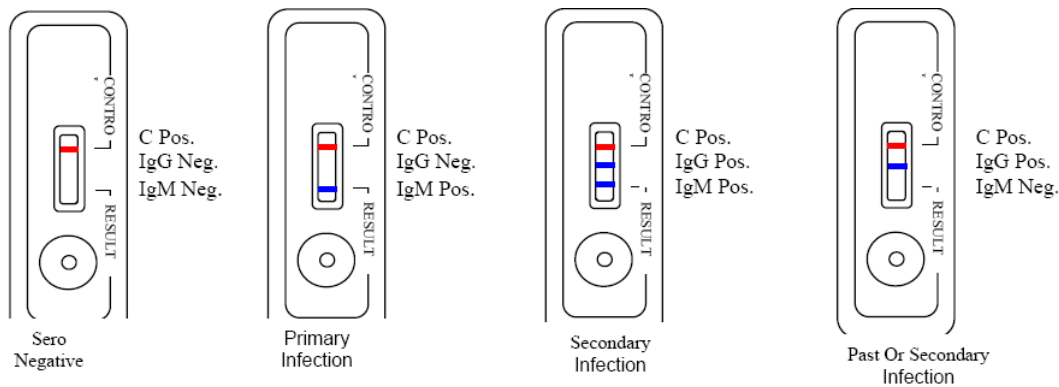


- Lea el resultado de la prueba después de 15 a 30 minutos.



Los resultados negativos deben ser confirmados luego de 30 minutos. No lea los resultados luego de 60 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:



1. La prueba no es válida si la línea roja de control no aparece, independientemente de la aparición de la línea azul de IgG e IgM. Repita la prueba con un nuevo dispositivo.
2. Los especímenes con anticuerpos IgM positivos generarán una línea roja en la región de control y una línea azul en la región IgM. (Una línea azul al lado del “1”)
3. Los especímenes con anticuerpos IgG positivos generarán una línea roja en la región de control y una línea azul en la región IgG. (Una línea azul al lado del “2”)
4. Los especímenes con anticuerpos IgG e IgM positivos generarán una línea roja en la región de control y las líneas azules en las regiones IgG e IgM respectivamente.
5. Los resultados positivos han de aparecer entre 5-10 minutos. **Los resultados negativos deben ser confirmados luego de 30 minutos.** Los resultados son estables por hasta 60 minutos. **No lea los resultados luego de 60 minutos.**

IgM Positivo.

La línea de control (línea roja) y la línea IgM (línea azul adyacente al “1”) son visibles en la ventana de prueba del dispositivo. Indica que la prueba es positiva para anticuerpos IgM. Esto es indicativo de una infección primaria de dengue (Vea la sección de “valores esperados y limitaciones”).

IgM e IgG Positivo.

La línea de control (línea roja), las líneas IgM e IgG (ambas líneas azules) son visible en la ventana de prueba del dispositivo. Indica que la prueba es positiva para anticuerpos de IgM e IgG. Esto es indicativo de una infección secundaria por dengue (Vea la sección de “valores esperados y limitaciones”).

IgG Positivo

La línea de control (línea roja) y la línea IgG (línea azul adyacente al “2”) son visible en la ventana del dispositivo de prueba. Indica que la prueba es positiva para anticuerpos IgG. Esto podría ser indicador de una infección secundaria por dengue (Vea la sección de “valores esperados y limitaciones”).

Resultados negativos de la prueba.

La línea de control es la única línea visible en la ventana de prueba del dispositivo. Lo que significa que no se detectaron anticuerpos IgG ó IgM.

El resultado no excluye la infección del dengue. Si los síntomas persisten, se debería tomar una nueva muestra del paciente en un período de 3-5 días y luego debe ser analizada (Vea la sección de “valores esperados y limitaciones”).

Resultados Inválidos de la Prueba

IMAGEN

Si la línea de control (línea roja) no aparece en la ventana de prueba del dispositivo, los resultados de la prueba son INVÁLIDOS independientemente de la presencia o ausencia de líneas en la región IgG ó IgM de la ventana del dispositivo. Repita la prueba usando un nuevo dispositivo.

VALORES ESPERADOS:

El dengue primario se caracteriza por la presencia de anticuerpos de tipo IgM, 5 días después del inicio de la infección.

El dengue secundario se caracteriza por la elevación de anticuerpos específicos de tipo IgG. Usualmente los anticuerpos IgG se elevaran entre 1 ó 2 días después del inicio de la infección. Por lo tanto, dependiendo del día que se tome la muestra, algunas infecciones secundarias del dengue pueden no tener un nivel detectable de IgM. Un último diagnóstico debe ser basado en los resultados de esta prueba en conjunto con otros hallazgos clínicos.

CONTROL DE CALIDAD:

1. Para que la prueba sea considerada válida, debe aparecer la línea de control. Si no aparece, los resultados de la prueba no son validos y la prueba debe ser repetida.

2. Además en cuanto a los procedimientos de control de calidad de los estándares del laboratorio, el NCCLS recomienda que se pruebe un control externo positivo y uno negativo, al menos una vez por cada 25 kits de prueba y/ó por cada operador que monte la prueba. Esto confirmará que los reactivos y dispositivos de prueba estén funcionando de manera apropiada y que el operador sea capaz de llevar a cabo correctamente el procedimiento de la prueba. Por favor, refiérase a esta publicación de la NCCLS, C24-A para recomendaciones sobre las prácticas apropiadas de control de calidad.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA:

Esta prueba detecta la presencia de anticuerpos del dengue en muestras, y no debería ser usada como criterio único para el diagnostico de la infección viral del dengue. Es común encontrar reactividad cruzada serológica con otros flavivirus (ejemplo: encefalitis Japonesa, encefalitis del Nilo occidental, fiebre amarilla, etc.), por consiguiente, es posible que pacientes con estos virus muestren algún nivel de reactividad con esta prueba.

2. En infecciones tempranas y algunas infecciones secundarias, niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos dentro de los primeros siete o diez días de la infección. Si los síntomas persisten, se debe tomar una muestra fresca del paciente de 3 a 5 días después de la primera prueba, y ensayar la nueva muestra.

3. Como en todas las pruebas de diagnostico, el resultado debe ser relacionado con hallazgos clínicos. Si la prueba resulta negativa pero aun existe la sospecha de sufrir de

una infección por dengue, entonces se debe hacer seguimiento y más pruebas clínicas usando otros métodos clínicos.

4. Un resultado serológico negativo en cualquier momento, no se opone a la posibilidad de una infección temprana del virus del dengue.

5. Debe ser evitado el uso de muestras ictericas o lipémicas.

6. Es requerida la estricta adherencia a la prueba. No re-use dispositivos negativos. No adultere el reactivo de la solución de lavado.

7. Esta prueba no puede ser usada para monitorear la terapia o para estimar el nivel relativo de anticuerpos.

8. Esta prueba no debería ser usada en muestras de individuos inmunosuprimidos.

9. Los resultados negativos deben ser confirmados en 30 minutos.

10. Los resultados no deben ser determinados después de 60 minutos.

11. El diagnostico final debe ser basado en los resultados de esta prueba en conjunto con hallazgos clínicos y del laboratorio.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:

Un estudio clínico usando un total de 69 muestras de suero fue conducido en varios lugares de 4 países. Los resultados del test de Dengue IgG/IgM de Cortez Diagnostic Inc., fueron comparados con los test de ELISA comercialmente disponible, la sensibilidad y especificidad de los resultados de la prueba de IgG e IgM se muestran abajo:

Resultados IgG	ELISA (+)	ELISA (-)
Cortez (+)	26	2
Cortez (-)	1	39

Sensibilidad=96% Especificidad= 95%

Resultados IgG	ELISA (+)	ELISA (-)
Cortez (+)	40	1
Cortez (-)	1	27

Sensibilidad= 97% Especificidad= 95%

REACTIVIDAD CRUZADA:

Varias muestras con resultados clínicos conocidos, verificados con PCR, fueron probadas con el test de Dengue IgG/IgM Cortez Diagnostic Inc., para determinar la reactividad cruzada de la prueba. Estos datos son presentados en la siguiente tabla:

	IgM neg (-ve) / total IgM cases	IgG neg. (-ve) / total
JE (5)	5/5 (100%)	5/5 (100%)
Malaria (8)	8/8 (100%)	8/8 (100%)
Trombocitosis (8) (8 cases)	7/8 (88%)	8/8 (100%)
Negativos (30)	30/30 (100%)	30/30 (100%)

Total (Especificidad)	50/51 (98%)	51/51 (>99%)
--------------------------	-------------	--------------

Aunque la literatura sugiere que hay reactividad cruzada serológica dentro del grupo Flavivirus, ej., Dengue, encefalitis japonesa y la Fiebre Amarilla, nuestra prueba, basada en número limitado de muestras, no detectó una respuesta IgG o IgM con muestras positivas para encefalitis japonesa.

ESTABILIDAD:

La prueba Dengue IgG/IgM **Cortez Diagnostic, Inc** ha sido capaz de ser estable por hasta 14 meses desde la fecha de manufactura cuando es almacenada de 4 a 30 °C. La fecha de expiración de cada prueba puede ser vista en la etiqueta de la caja. Ningún componente o reactivo debería ser usado luego de la fecha de expiración.

REFERENCIAS:

1. Sabin, AB and Schlesinger RW. Production of immunity to dengue with virus modified by propagation in mice: Science (1945), 101:640.
2. Lam, SK. Dengue haemorrhagic fever. Rev. Med. Micro. (1995), 6:39-48.
3. Innis, BL, 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),40:418-427.
4. CDC/NIH Guidelines. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 2nd Edition, 1988 Soti-Strong. Diagnosis, prevention, and treatment of tropical disease, 7th ed., Philadelphia, The Ablakiston Company

CORTEZ DIAGNOSTICS, INC.

23961 Craftsman Road, Suite E/F,
Calabasas, CA 91302 USA
Tel: (818) 591-3030 Fax: (818) 591-8383

ISO 13485-2003