DENGUE IgG/IgM

TIPO DE ENSAYO	**CUALITATIVO**
MUESTRA	**SANGRE/SUERO /PLASMA**
SENSIBILIDAD	**94.3%**
ESPECIFICIDAD	**99.1%**
MÉTODO	**INMUNOCROMATOGRÁFICO**
PRESENTACIÓN	**CASSETTE**

INTRODUCCIÓN

El dispositivo XERION **DENGUE (Sangre/suero/plasma) permite** mediante un ensayo Inmunocromatográfico la detección cualitativa en un solo paso de la presencia de Anticuerpos tipo IgG/IgM contra el Dengue en sangre total, suero o plasma como ayuda en el diagnóstico de la infección por Dengue. Antígenos purificados recombinantes son utilizados para identificar específicamente los Anticuerpos Totales contra DENGUE con alta sensibilidad. Los resultados de la prueba son rápidos, fáciles de interpretar de manera visual y no se requiere de instrumentación o reactivos adicionales.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus dengue (DENV) es un virus del género Flavivirus de la familia Flaviviridae causante del dengue. En la actualidad se conocen 4 serotipos del Virus del Dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 ó DEN-4), los cuales son muy semejantes entre sí, siendo los tipos 1y 2 los más agresivos y el tipo 4 el más benigno.

Cada serotipo es bastante diferente, por lo que no existe protección y las epidemias causadas por múltiples serotipos pueden ocurrir. Es importante tener en cuenta que la infección por uno de estos serotipos no provoca protección cruzada para los otros, ya que cada uno da su inmunidad específica, de tal manera que una persona tiene la posibilidad de adquirir la infección 4 veces.

El dengue se transmite a los humanos por el mosquito hembra Stegomyia aegypti (antes denominado Aedes aegypti), raramente es causado por el Aedes albopictus, el cual es el principal transmisor del dengue en el hemisferio occidental.

El Dengue es una enfermedad viral, endémica y epidémica en zonas tropicales y subtropicales, localizadas por debajo de 1800 mts sobre el nivel del mar, donde se encuentra su vector principal, el Stegomyia aegypti.).

La infección por dengue clásico (también conocida como Fiebre rompe huesos) se caracteriza por una aparición súbita de fiebre, inflamación de los ganglios linfáticos, cefalea intensa, mialgias, artralgias y erupción cutánea (petequias).

La forma hemorrágica presenta además de los síntomas anteriores, predisposición hemorrágica, petequias y hepatomegalia con o sin falla circulatoria (shock).

La infección primaria aumenta los niveles de anticuerpos tipo IgM 3- 5 días después de la aparición de fiebre, los cuales persisten durante 30 - 90 días. La mayoría de los pacientes con dengue en regiones endémicas tienen infecciones secundarias, a quienes se les encuentran altos niveles de anticuerpos tipo IgG de memoria o simultáneamente con respuesta de IgM response. Por lo tanto, la detección de anticuerpos específicos anti-Dengue IgM e Anticuerpos IgG también pueden ayudar a distinguir entre infecciones primaria y secundaria.

FUNDAMENTO

El dispositivo XERION DENGUE (Sangre total/suero/plasma) es un inmunoensayo cualitativo para la detección de anticuerpos tipo IgG/IgM anti Dengue en sangre total, suero o plasma.

Esta prueba consiste de dos componentes, un componente de IgG y un componente IgM. En el componente de IgG, la línea o región G de la prueba está recubierta por anti-IgG humana. Durante el ensayo, la muestra reacciona con las partículas del antígeno de dengue que recubre la membrana. La muestra luego migra hacia arriba sobre la membrana cromatográficamente mediante acción capilar y reacciona con el anti- IgG humano en la de la línea (región G) de prueba. Si la muestra contiene anticuerpos IgG para Dengue, una línea de color borgoña o morada aparecerá en la línea de ensayo región G. En el componente IgM, la región M de la prueba está recubierta por anti-ligando, durante el ensayo la muestra reacciona con el ligando anti-IgM humano. Los anticuerpos IgM del Dengue, sí se encuentran presentes en la muestra, reaccionan con el ligando anti-IgM humano y las partículas antígeno-recubiertas del Dengue en la membrana de prueba, este complejo es capturado por el anti-ligando, formando una línea de color borgoña o morado en la región M de la línea de prueba.

Por lo tanto, si la muestra contiene anticuerpos IgG contra el Dengue, una línea de color borgoña o morado aparecerá en la región G. Si la muestra contiene anticuerpos IgM contra el Dengue, una línea de color borgoña o morado aparecerá en la región M. Si la muestra no contiene los anticuerpos del Dengue, ninguna línea de color aparecerá, en ninguna de las regiones ó líneas de prueba, indicando un resultado negativo. Para servir como procedimiento de control, una línea color borgoña o morado aparecerá en la región de la línea de control, indicando que el volumen de muestra ha sido el indicado y que la debida absorción en la membrana ha ocurrido.

El dispositivo de prueba contiene partículas antígeno-recubiertas del Dengue y ligando anti- IgM humano. El anti- IgG humano y los anti-ligando están recubiertos en las regiones de las líneas de prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Dispositivo **XERION DENGUE (Sangre/Suero/Plasma)**
- Buffer
- Inserto

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Reloj o Timer
- Elementos para obtención y almacenamiento de la muestra.
- Pipeta Automática

OBTENCION DE LA MUESTRA

Toda muestra debe ser manipulada con la suficiente precaución como si fuera potencialmente infecciosa.

- La muestra debe tomarse mediante venopunción normal, recolectarse en un recipiente con o sin anticoagulante y manejarse con precaución según los procedimientos utilizados en el laboratorio.
- Puede tomarse en cualquier momento (no se requiere que el paciente esté en ayunas).
- La muestra debe ser analizada preferiblemente el mismo día de su recolección. Si esto no es posible consérvela en refrigeración (máximo 3 días) o congelación (- 20 °C hasta 30 días).
- No congele y descongele repetidamente la muestra porque podría afectar el resultado del ensayo.
- Remueva del Suero/Plasma cualquier sedimento mediante centrifugación.
- No utilice muestras turbias ya que pueden estar contaminadas por microorganismos, ni hemolizadas porque pueden alterar el resultado.

PROCEDIMIENTO

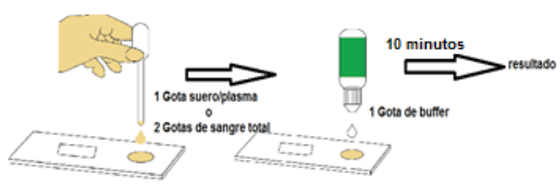
Permita que la muestra y el cassette alcancen la temperatura ambiente antes del ensayo.

1. Extraiga el Cassette y el gotero del empaque de aluminio. Identifíquelo de acuerdo a los procedimientos de su laboratorio.

2. Coloque el cassette en una superficie nivelada y limpia.

3. Coloque el gotero verticalmente, llénelo con suero o plasma y transfiera al orificio absorbente del Cassette (S) ,1 gotas de suero o plasma (Aprox 5 µl), o 2 gotas de sangre total (10µl), luego agregue una gota de buffer de buffer. (40 µl)

5. Lea los resultados a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos



INTERPRETACION DE RESULTADOS

IgG POSITIVO: Aparecen dos bandas de color, una en la región de control (C) y otra en la región de prueba (G). La intensidad del color de la banda en la región de prueba (G) puede variar.

El resultado es positivo para Anticuerpos tipo IgG anti Dengue y es probablemente indicativo de infección secundaria de dengue.

IgM POSITIVO: Aparecen dos bandas de color, una en la región de control (C) y otra en la región de prueba (M). La intensidad del color de la banda en la región de prueba (M) puede variar.

El resultado es positivo para virus Dengue Anticuerpos tipo IgM y es indicativo de infección primaria del dengue.

IgG e IgM POSITIVO: Aparecen tres bandas de color, una en la región de control (C), otra en la región de prueba (G) y otra en la región de prueba (M). La intensidad de color de las líneas no tiene por qué coincidir.
El resultado es positivo para IgG e IgM anticuerpos es indicativo de infección secundaria de dengue.

NOTA: La intensidad del color en la prueba (**G y/o M**) variará dependiendo de la concentración de anticuerpos de dengue en la muestra.

NEGATIVO: Aparece únicamente una banda de color en la región de control (C). No hay banda visible en la región de prueba (G y/o M).

NO VÁLIDO: INVÁLIDO: Si la banda C no se colorea, la prueba es inválida independientemente que se coloreen las demás bandas G, O M. o si no se visualiza ningún resultado. Se debe repetir la prueba con un nuevo casete
Si el problema persiste, por favor comuníquese con el departamento de servicio al usuario de **XERION.**

CONTROL DE CALIDAD

Un procedimiento de control interno está incluido en la prueba. Una línea de color borgoña o morada aparecerá en la región línea de control (C), lo que confirma el volumen de muestra suficiente y el procedimiento ha sido realizado de forma adecuada.
Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan verificar cada cierto tiempo que los componentes de los dispositivos de diagnóstico operan correctamente utilizando materiales de control diseñados para este fin.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los dispositivos de diagnóstico **XERION DENGUE (sangre/suero/plasma)** deben permanecer hasta la fecha de vencimiento en sus respectivos empaques de aluminio sin abrir, refrigerados o a temperatura ambiente (2°C a 30°C), alejados de la luz solar directa, la humedad y el calor excesivo. La exposición del dispositivo de diagnóstico a temperaturas mayores a 30°C, puede reducir la vida media del producto u ocasionar el daño definitivo del mismo.

PRECAUCIONES

- Se debe leer y seguir cuidadosamente las instrucciones del procedimiento de ensayo con el objeto de realizarlo en forma correcta.
- Todos los materiales utilizados durante el ensayo deben considerarse como potencialmente infeccioso. Manipúlelos y deséchelos de acuerdo con las normas vigentes.
- Exclusivamente para diagnóstico **IN VITRO** y para ser usados por profesionales.
- No utilice el dispositivo de diagnóstico después de la fecha de vencimiento indicada en el empaque de Aluminio.
- No reutilice ninguno de los elementos del dispositivo de diagnóstico.
- El dispositivo **XERION DENGUE (sangre/suero/plasma)** está diseñado para detectar la presencia de Anticuerpos IgG-IgM contra Dengue en muestras de sangre, suero o Plasma. El análisis en otras secreciones corporales no ha sido validado y puede no arrojar resultados correctos.
- Evite humedecer el área de la ventana de visualización de resultados.
- No coma, beba o fume en el área en donde los especímenes o los kits son manipulados.
- Use vestuario de protección tal como batas de laboratorio, guantes desechables y protección ocular cuando un espécimen esté siendo analizado.

LIMITACIONES

- El dispositivo **XERION DENGUE** (sangre total/suero/plasma) indica únicamente la presencia de anticuerpos anti Dengue en la muestra y no debe ser usado como único diagnóstico del Dengue. Se recomienda confirmar los resultados positivos con otras técnicas diagnósticas como ELISA. Todos los resultados deben ser valorados con otra información clínica y con criterio médico.
- En el inicio precoz de la fiebre, la concentración de IgM anti Dengue pueden estar por debajo de niveles detectables. Para la infección primaria, un estudio de anticuerpos IgM por inmunoensayo enzimático de captura (MAC-ELISA) mostró que el 80% de los pacientes con dengue exhibió niveles detectables de anticuerpos IgM por el quinto día después de la infección, y el 99% de los pacientes la prueba de IgM positiva de 10 días.
- Se recomienda que los pacientes se realicen pruebas después de los 10 días de la infección.

  Para la infección secundaria, una baja fracción molar de la lucha contra el Dengue IgM y una alta fracción molar de IgG que se reactiva en líneas generales a flavivirus caracterizan a los anticuerpos. La línea de reacción IgM puede ser débil y tener reacción cruzada con IgG mostrando reacción.
- Si el resultado es negativo y los síntomas clínicos persisten se recomienda confirmar con otros métodos de análisis. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por el virus.

INTERFERENCIAS

Puede haber reactividad cruzada con todo el grupo flavivirus (dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis de San Luis, el Virus del Nilo Occidental, encefalitis japonesa y el virus de la fiebre amarilla).

CRITERIOS DE DESEMPEÑO

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y EXACTITUD

La infección primaria por Dengue se caracteriza por la presencia de anticuerpos IgM detectables en 3-5 días después del inicio de la infección. La infección secundaria de dengue se caracteriza por la elevación específica del Anticuerpos-IgG. En la mayoría de los casos, esto se acompaña de niveles elevados de IgM. El dispositivo **XERION DENGUE** (sangre/suero/plasma) se ha comparado con una de las principales pruebas comerciales con la técnica ELISA, obteniendo los siguientes resultados:

TIPO DE INFECCION	IgG	IgM
PRIMARIA	0%	>83.3%
SECUNDARIA	73.4%	>98.4%
NEGATIVA	99.1%	99..1%

En la infección primaria y secundaria la Sensibilidad es de 95.8% y la Especificidad es mayor al 99.0%.

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 patients detected 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 infections. Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.
9.

COD ALL