

La prueba Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste es un rápido inmunoensayo de flujo lateral de panel doble para detección simultánea y diferenciación de anticuerpos IgG e IgM anti-dengue y el antígeno dengue (Ag dengue) en muestras humanas de sangre entera, suero o plasma. La prueba se puede aplicar tanto a la detección como en el diagnóstico de la infección por el virus del dengue.

#### Resumen y Explicación de la Prueba:

El virus del dengue, una familia de cuatro serotipos distintos del virus (Den 1,2,3 y 4) son filamentos únicos, envueltos en ARN de sentido positivo. Los virus son transmitidos por mosquitos diurnos de la familia Culicidae, especialmente el *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Hoy en día, más de 2,5 millones de personas que viven en zonas tropicales de Asia, África, Australia y América, las zonas de riesgo para la infección por dengue. Se estima que 100 millones de casos de dengue y 250.000 casos de fiebre hemorrágica del dengue ocurren cada año en un 1-3 nivel mundial.

La detección serológica es un método común para el diagnóstico de la infección por virus Dengue. Los anticuerpos IgM anti-dengue comienzan a aparecer 3 días después de la exposición y permanece en la circulación durante aproximadamente 30 a 60 días. Los niveles de anticuerpos IgG anti-dengue se elevan aproximadamente a los 7 días, alcanzan picos en 2-3 semanas, y persisten durante toda la vida 4-6. La detección de antígenos durante la replicación viral en pacientes infectados muestra resultados prometedores. Esto permite un diagnóstico a partir del primer día del comienzo de la fiebre al día 9 de la infección, ya que la fase clínica de la enfermedad es larga, la prueba permite la detección temprana y el tratamiento oportuno 7.

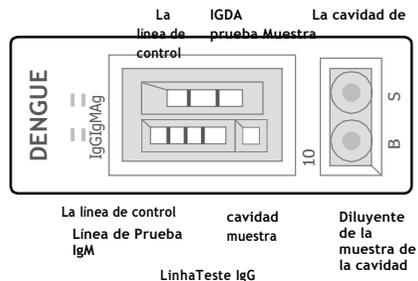
La prueba rápida de Dengue IgG/IgM/Ag de Eco detecta anticuerpos IgG e IgM anti-dengue y antígeno circulante del dengue dentro de 25 minutos. La prueba es fácil de usar, no requiere equipo de laboratorio y es de capacitación mínima.

#### Principio de la Prueba

La prueba Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste contiene dos dispositivos de prueba: el panel de la izquierda es la prueba de anticuerpos IgG e IgM anti-dengue y el panel del lado derecho, la prueba para el antígeno del dengue.

La prueba rápida para la detección de anticuerpos IgG e IgM anti-dengue situada en el lado izquierdo del panel es una rápida prueba inmunocromatográfica de flujo lateral. La tira de prueba contenida en el cassette consiste en: 1) una almohadilla de conjugado, color rojo, que contiene el antígeno envuelto conjugado con oro coloidal (conjugado dengue Ag) y anticuerpo IgG de conejo conjugado con oro; 2) membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas (líneas G y M) y una línea de control C (línea C). La línea G está pre-recubierta con anticuerpo para la detección de IgG anti-dengue, la línea M está revestida con anticuerpos para la detección de IgM anti-dengue y la línea C es pre-revestida con anticuerpos de cabra anti-IgG de conejo.

La prueba rápida para la detección de dengue Ag, localizada en el lado derecho del panel es también una rápida prueba inmunocromatográfica de flujo lateral. La tira de prueba contenida en el cassette consiste en: 1) una almohadilla de conjugado, color rojo, que contiene el anticuerpo ratón anti-antígeno de dengue conjugado con oro coloidal (Ac de dengue conjugado) y anticuerpo IgG de conejo conjugado con oro; 2) membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea T es pre-recubierta con anticuerpo de ratón anti-antígeno del dengue y la línea C está pre-recubierta con anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo. Los anticuerpos contra dengue reconocen los antígenos de los cuatro serotipos del virus del dengue.



Cuando un volumen suficiente de muestra de prueba se dispensa en la cavidad de la muestra en el casete, la muestra migra por capilaridad. anti-Dengue anticuerpo IgG; si está presente en la muestra, se unirá dengue Ag conjugado. El complejo inmune es capturado en la membrana por IgG anti-humana, formando una región de color rojo en la línea L que indica prueba de reactivo para anti-dengue IgG. El resultado positivo en la línea G sugiere una infección secundaria o una infección previa.

IgM anti-fiebre del dengue, si está presente en la muestra se unirá al dengue Ag conjugado. El complejo inmunológico es capturado por IgM anti-humano, formando una línea de color rojo en la región M, lo que indica reactivo IgM anti-dengue, lo que sugiere una infección primaria reciente.

El antígeno dengue, si está presente en la muestra será reconocido por Ac conjugado dengue. El inmunocomplejo es capturado en la membrana por anticuerpo de ratón anti-antígeno de dengue, la formación de un color rojo en la línea T, lo que indica un resultado positivo para el antígeno de dengue.

La falta de tinción en las líneas de las regiones de L, M o T resultados sugieren no reactivo.

La prueba contiene un control interno (línea C), que debe mostrar el color rojo, formado por la IgG anti-conejo IgG de cabra / anticuerpo de conejo conjugado con oro complejo inmunológico, los lados derecho e izquierdo del panel, independientemente de la presencia del color líneas de prueba. De lo contrario, el resultado de la prueba se considera no válida y debe repetirse utilizando otro dispositivo.

#### Reactivos y materiales necesarios

- cada dispositivo Se sella de forma individual y contiene dos elementos en el interior:
  - cinta de material compuesto por el dispositivo de plástico y tiras reactivas.
  - Una bolsita desecante, 1 g de gel de sílice.
- capilar l de 5 (prueba para el dengue IgG / IgM).
- pipeta de plástico desechable (por Ag prueba del dengue).
- botella desechable 5 ml de tampón diluyente.
- manual instrucciones.

#### Materiales que pueden ser necesarios y que se concedan

- Reactivo de control.
- control, No reactivo.
- Cronómetro.

#### Atenciones y precauciones

##### El uso de diagnóstico vitro

- Este folleto debe leerse antes ejecutar la prueba. Para obtener resultados más precisos, siga todas las instrucciones.
- No abra el envase antes de la prueba está lista para funcionar.
- No utilice dispositivos de vencimiento.

4. No vuelva a utilizar prueba.

5. todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente antes de comenzar el procedimiento.

6. Los componentes de este kit se han probado con el control de calidad de la unidad de proceso por lotes estándar. No mezclar componentes de distintos lotes.

7. No utilice sangre hemolizada como muestra de ensayo.

8. Use ropa protección y guantes durante la manipulación de los reactivos del kit y muestras. Lávese las manos después de realizar la prueba.

9. No fumar, beber o comer en áreas donde se muestras o reactivos manejaado.

10. tratar y disponer de todas las muestras y materiales utilizados en la prueba como los residuos potencialmente infecciosos.

11. manejar El control de reactivo y la misma forma no reactivo como las muestras de los pacientes;

12. Los resultados de la prueba deben leerse dentro de 25 minutos después de la aplicación de la muestra al dispositivo. Lea el resultado después de 25 minutos puede causar resultados erróneos.

13. no lleve a cabo la prueba en lugares con una fuerte corriente de aire con ventilador o la natación fuerte con aire acondicionado.

#### Preparación de Reactivos e Instrucciones de Almacenamiento

Todos los reactivos están listos para usarse como se proporcionan. Almacene los dispositivos de prueba a una temperatura de 15°C a 30°C. Los controles reactivos y no reactivos deben ser mantenidos a una temperatura de 2°C y 8°C. Si se almacena entre 2°C y 8°C, asegúrese que el dispositivo de prueba alcance temperatura ambiente antes de usarlo. La prueba permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. No congelar. No almacene el kit a temperaturas superiores a 30°C.

#### Recogida y manipulación de muestras

Teniendo en cuenta todo material de origen humano como infecciosos, procedimientos de bioseguridad deben ser seguidas en el manejo de las muestras.

##### plasma:

- Recoger muestra de sangre en un tubo de recogida que contiene EDTA, citrato o heparina por punción venosa.
- Separar el plasma por centrifugación;
- retirar con cuidado el plasma en el interior del colector de todo y lo puso en un nuevo tubo.

##### suero:

- tomar la muestra sangre en un tubo de recogida sin anticoagulantes por punción venosa.
- Permitir coagulación de la sangre.
- Retirar con cuidado el suero en el tubo de recogida y se coloca en un tubo nuevo.

**la sangre:** gotas La sangre completa puede ser obtenida por punción de la punta del dedo o punción venosa. Recoger la muestra de sangre en todo el vacío con tapa de color púrpura, azul o verde (EDTA, citrato o heparina, respectivamente). No utilice sangre hemolizada para la prueba.

prueba muestras tan pronto como sea posible después de la recogida. Si no se realice inmediatamente la prueba, el almacenamiento de las muestras a 2 ° C y 8 ° C durante un máximo de 5 días. Las muestras se deben congelar a -20 ° C para el almacenamiento durante un largo periodo.

Evitar ciclos de congelación y descongelación. Antes del ensayo, las muestras congeladas deben ser llevados a temperatura ambiente y se homogeneiza. Las muestras que contengan partículas visibles deberían aclararse por centrifugación antes de la prueba.

No utilizar muestras con apariencia lipémicos, hemolítico o turbia, para evitar interferencias en la interpretación de los resultados.

## procedimiento

**Paso 1:** Tomar la muestra y los componentes de la prueba a temperatura ambiente, refrigerados o congelados. Una vez que se descongela la muestra, mezclar bien antes de la prueba.

**Paso 2:** Abra el paquete y saque el dispositivo. Colocar la placa en una superficie limpia y plana.

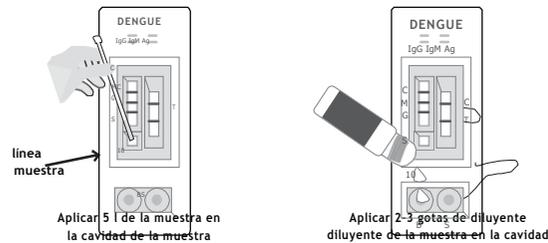
**Paso 3:** Etiquetar el dispositivo de prueba con el número de identificación de la muestra.

**Paso 4:** Llenar la pipeta de plástico desechable con la muestra.

### Para la detección de IgG / IgM anti-dengue

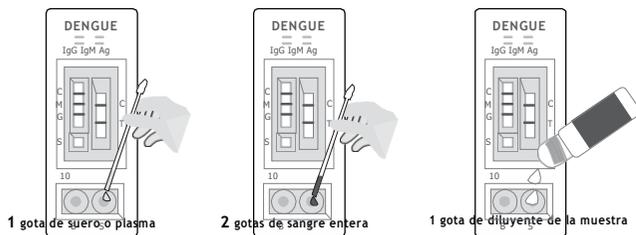
llenar el tubo capilar con la muestra de sangre entera, suero o plasma .. no supera la línea de la muestra, como se muestra en la imagen. Sostiene el tubo capilar y verticalmente para dispensar toda la muestra en el centro de la muestra, asegurándose de que no queden burbujas de aire. en

Inmediatamente después, añadir 2-3 gotas (aproximadamente 60-100 uL) tampón diluyente dentro de la diluyente cavidad.



a la detección de antígeno dengue

mantener la pipeta verticalmente y dispensar una gota de suero o plasma (aproximadamente 30-45 uL) y 2 gotas de muestra de sangre en la cavidad.. certicando que no hay burbujas de aire. A continuación, añadir 1 gota de inmediato tampón diluyente (aproximadamente 35-50 uL).



**Paso 5:** Medir el tiempo del tiempo.

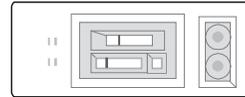
**Paso 6:** Lea el resultado de la prueba en 20 minutos, no interprete después de 25 minutos. Resultados reactivo puede ser visible en un corto tiempo de 1 minuto.

No lea el resultado después de 25 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba inmediatamente después de la interpretación de los resultados.

## Interpretación de resultados,

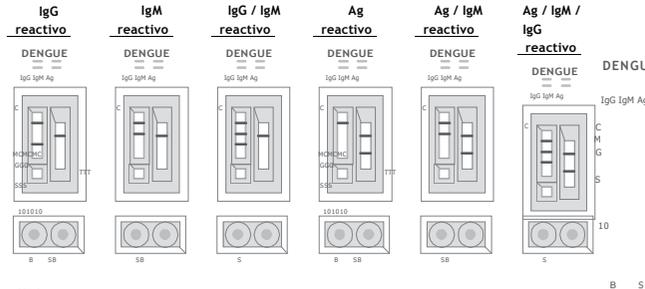
### Resultados No Reactivo:

si solamente línea C parece ninguna tinción en las líneas L, M y T indica que no se detectó antígeno de anticuerpos y anti-dengue Dengue. El resultado es no reactivo.



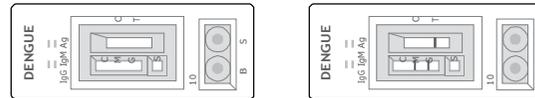
### resultado del reactivo:

Si las líneas C, G, M y T aparecen, la prueba indica la presencia de anticuerpos y antígenos de dengue en la muestra. El resultado es el reactivo. La presencia de la línea T, M o L, incluso débil indica un resultado positivo



### no válido:

Si no aparece la línea C, el ensayo no es válido incluso con la aparición de las líneas G, M o T. La línea de control debe aparecer siempre si el procedimiento se realiza de manera adecuada y los reactivos de la prueba son funcionales. Repita la prueba con un nuevo dispositivo.



## Control de calidad

**Control Interno:** Esta prueba contiene una línea de control interno integrado C. La línea C se muestra después de la adición de la muestra y el tampón diluyente. Si no aparece la línea C, revisar todo el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.

**Control externo:** Buenas practicas Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, reactivos y no reactivos para asegurar la eficacia de las pruebas, sobre todo en las siguientes circunstancias:

- Un nuevo operador utiliza la prueba, antes de probar las muestras;
- Se utiliza un nuevo lote de kit de prueba;
- Se utiliza un nuevo envío de kits;
- La temperatura usada en las pruebas de almacenamiento fuera de rango 15°C a 30°C;
- La temperatura de la zona de ensayo realización de la gama de 15°C a 30°C;
- para verificar mayor frecuencia que los resultados esperados reactivos o no reactivos;
- para investigar hacer que los resultados no válidos con frecuencia.

## rendimiento clínico

166 se utilizaron muestras biológicas proporcionadas por los laboratorios clínicos de referencia. Los resultados se compararon con los resultados de un kit Dengue IgG / IgM / Ag inmunocromatográfico comercialmente disponible (método de referencia), con las mismas muestras. Las muestras se consideraron positivas si el resultado es positivo kit de referencia. Las muestras se consideran negativas si el resultado del juego de referencia fue negativa. Una comparación de los resultados sigue:

kits de referencia	Dengue IgG / IgM / Ag Prueba de Eco		
	reactivo	No Reactivo	total
reactivo	66	0	66
No Reactivo	0	100	100
total	66	100	166
Sensibilidad relativa: 100,0%		Especificidad relativa: 100,0%	

## Limitaciones de la prueba

- no siga el procedimiento de prueba correcto puede conducir a resultados inexactos.
- La prueba rápida patrón Dengue IgG / IgM / Ag Eco está limitada cualitativamente la detección de anticuerpos y antígenos en suero y plasma. La intensidad de la línea de prueba no tiene correlación lineal con el título de anticuerpos y antígenos en muestras.
- No hay información serotipos del dengue pueden estar provistos de esta prueba.
- prueba Prueba Rápida de Dengue IgG / IgM / Ag Eco no puede ser utilizada para diferenciar, si la infección es primaria o secundaria. No hay información dengue serotipos se puede proporcionar con esta prueba.
- La reactividad serológica cruzada con otros flavivirus Es común (por ejemplo, encefalitis Japonés, del Nilo Occidental, fiebre amarilla, etc.). Por lo tanto, es posible que los pacientes infectados con estos virus pueden tener algún grado de reactividad con esta prueba.
- Un resultado no reactivo indica la ausencia de anticuerpos detectables o de antígenos del virus del dengue. Sin embargo, una prueba sin resultado positivo no excluye la posibilidad de exposición dad o la infección por el virus del dengue.
- Un resultado no reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos o antígenos del virus dengue presentes en la muestra está por debajo del límite de detección del ensayo, o anticuerpos y antígenos que son detectados no están presentes durante la etapa de la enfermedad en cada de las muestras recogidas.
- Si los síntomas persisten por más que el resultado es no reactivo prueba rápida del Dengue IgG / IgM / Ag Prueba Eco, se recomienda llevar a cabo una nueva prueba después de unas semanas o utilizar un método alternativo.
- Algunas muestras que contienen altos títulos de anticuerpos heterótrofos o factor reumatoide puede haber cambiado sus resultados.
- Los resultados obtenidos con la prueba deben ser interpretados en conjunto con otros procedimientos y hallazgos clínicos.

## referencias

- Gubler DJ, Clark GG. El dengue / dengue hemorrágico. La aparición de un problema de salud mundial. Emerg Infect Dis 1995; 1 (2): 55-57.
- Gubler DJ, Trent DW. aparición de la epidemia de dengue / dengue hemorrágico como un problema de salud pública en las Américas. Infect Dis Agentes de 1994; 2: 383-393.
- Monath TP. Dengue: El riesgo los países desarrollados y en desarrollo. Proc Natl Acad Sci U SA 1994; 91: 2395-2400.
- Precio DD, Wilson SR, la fiebre del dengue, la dirección de la medicina, <http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm>, Jan de 2002.

## Fabricante: Eco Diagnóstica LTDA - ME.

Avenida Amarante Ribeiro de Castro, 551, Oliveira - Corinto - MG; código postal: 39200000 - CNPJ 14.633.154 / 0002-06. Autorización MS Nº 8,09548 a 8 - Resp farmacéutica. Técnica: Roberta de Castro y Costa CRF-MG: 31.236. Tel.: +55 31 36532025. [contato@ecodiagnostica.com.br](mailto:contato@ecodiagnostica.com.br) - [www.ecodiagnostica.com.br](http://www.ecodiagnostica.com.br)

Reg. MS. 80954880010 | Edición: 11/2015