



**PRUEBA TRES-LINEAS ANTI-DENGUE (IgM y IgG) DE UN PASO  
(Sangre entera/suero/plasma)  
SOLO PARA USO EN DIAGNOSTICO IN VITRO**

**USO PREVISTO**

LA PRUEBA TRES-LINEAS ANTI-DENGUE (IgM Y IgG) DE UN PASO DE ADVANCED QUALITY™ ES UN ENSAYO IMMUNOCROMATOGRAFICO RAPIDO, DE ORO COLOIDAL MEJORADO, PARA LA DETECCION CUALITATIVA DE ANTICUERPOS (IgM e IgG) DEL VIRUS DEL DENGUE (DV) EN SANGRE HUMANA, SUERO O PLASMA. ESTA PRUEBA ES DE DETECCION, Y TODOS LOS POSITIVOS DEBEN SER CONFIRMADOS MEDIANTE UNA PRUEBA ALTERNA. ESTA PRUEBA ESTA PREVISTA PARA EL USO PROFESIONAL DEL CUIDADO DE LA SALUD.

**RESUMEN**

Los virus del dengue (DV) son el agente causante de la fiebre del dengue, la fiebre del dengue hemorrágico y el síndrome de shock por dengue. Se estima que al menos 80 millones de infecciones DV se producen en todo el mundo anualmente. La mayoría de las infecciones de DV son asintomáticas. En la infección DV sintomática, los síndromes clínicos van desde una enfermedad febril indiferenciada con la fiebre del dengue (DF) a una fiebre hemorrágica del dengue (DHF), un síndrome de pérdida de plasma que, en su forma más severa de síndrome de shock del dengue (DSS) puede ser potencialmente mortal.

**PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO**

El ensayo comienza con una muestra aplicada al pocillo de muestra. Un antígeno DV recombinante conjugado con oro coloidal incrustado en la almohadilla de muestra reacciona con el anticuerpo DV presente en sangre entera, suero o plasma formando un complejo anticuerpo conjugado de DV. A medida que se deja que la mezcla migre a lo largo de la banda de prueba, el complejo anticuerpo conjugado de DV es capturado por la cadena IgM  $\mu$  (T1) anti-humana de ratón, o por la cadena IgG  $\mu$  anti-humana (T2) de ratón, inmovilizado sobre una membrana formando una línea de prueba de color en la región de prueba. Una muestra negativa no produce una línea de prueba debido a la ausencia un complejo de anticuerpo conjugado DV de oro coloidal. Los antígenos utilizados en la prueba de conjugado son proteínas recombinantes que corresponden a regiones de DV altamente inmunorreactivas. Una línea de control de color en la región de control aparece al final del procedimiento de prueba, independientemente del resultado de la prueba. Esta línea de control es el resultado del conjugado de oro coloidal uniéndose al anticuerpo anti-DV inmovilizado sobre la membrana. La línea de control indica que el conjugado de oro coloidal es funcional.

Se recubren dos líneas de prueba sobre la membrana: sobre la región T1 la cadena IgM $\mu$  anti-humana de ratón se inmoviliza; En la región T2 un IgG anti humano de ratón T2 se recubre, un resultado positivo que aparezca en la región T1 indica un DV IgM de muestras positivas y un resultado positivo que aparezca en la región T2 indica un DV IgG de muestras positivas.

**REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

- Tarjetas/bandas de prueba individuales envueltas en bolsas de aluminio con un desecante.
- Diluyente de Muestra.
- Prospecto.

**MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS**

- Pipetas para transferir el espécimen.
- Controles positivos y negativos.

**ALMACENAJE Y ESTABILIDAD**

1. Almacenar el kit sin usar a 2-30°C.
2. Almacenar las tarjetas/bandas de prueba a 2-30°C y lejos de la luz directa del sol.

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

1. Todos los resultados positivos deben ser confirmados por un método alternativo.
2. Tratar todos los especímenes como material infeccioso. Usar guantes y ropa de protección cuando maneje los especímenes.
3. Los dispositivos usados para la prueba deben ser esterilizados antes de ser desechados.
4. No usar los materiales del kit más allá de su fecha de expiración.
5. No intercambiar reactivos de un kit a otro.

**COLECTA DE MUESTRA Y ALMACENAJE**

**Sangre entera:**

1. Colectar especímenes de sangre entera siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio clínico.
2. Deben utilizarse tubos capilares heparinizados tratados con anticoagulante para la colecta de muestras de sangre.
3. Los especímenes de sangre entera deben ser usados inmediatamente después de ser colectados.

**Suero o Plasma:**

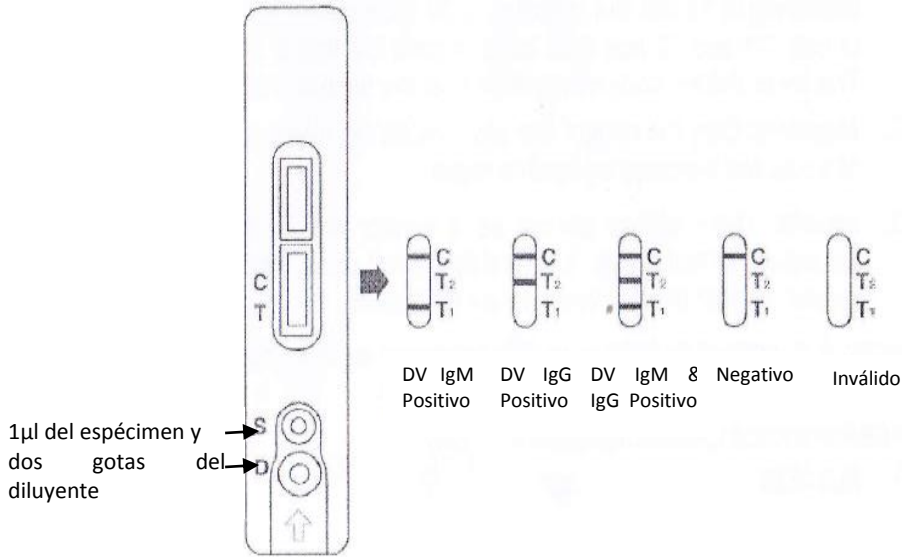
1. Colectar los especímenes de suero o plasma siguiendo los procedimientos regulares de laboratorio clínico.
2. Almacenaje: Un espécimen no debe ser refrigerado si no es usado el mismo día de la colecta. Los especímenes deben ser congelados si no son usados dentro de los 3 días de la colecta. Puede añadirse un 0.1% de Azida de sodio al espécimen como preservativo sin afectar los resultados del ensayo.

**PROCEDIMIENTOS DEL ENSAYO**

**No abra la bolsa hasta que esté preparado para realizar la prueba.**

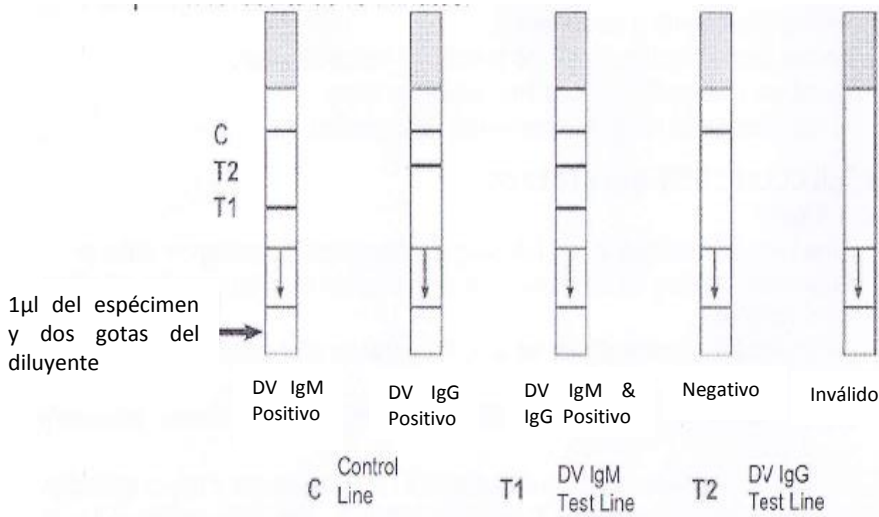
**Para tarjetas de prueba:**

1. Traer todos los reactivos y especímenes a temperatura ambiente.
2. Sacar la tarjeta de prueba de la bolsa y colocarla sobre una superficie limpia y seca.
3. Identificar la tarjeta de prueba para cada espécimen o control.
4. Echar 1 $\mu$ l del espécimen o control dentro del pocillo "S" sobre la tarjeta, luego añadir dos gotas de diluyente de muestra dentro del pocillo "D".
5. Interpretar los resultados de la prueba a los 15 minutos.



**Para bandas de prueba:**

1. Traer todos los reactivos y especímenes a temperatura ambiente.
2. Sacar la banda de prueba de la bolsa y colocar sobre una superficie limpia y seca.
3. Identificar la banda de prueba para cada espécimen o control.
4. Aplicar al menos 1µl del espécimen a la almohadilla de muestra detrás de la marca (↓↓↓) en la parte inferior de la banda de prueba, y luego añadir dos gotas de diluyente de muestra en el mismo lugar.
5. Interpretar los resultados de la prueba a los 15 minutos



**Precaución:** Usar una pipeta o boquilla limpia para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

**NOTA:** Se puede interpretar un resultado positivo temprano, sin embargo se debe leer cualquier resultado negativo a los 15 minutos para asegurarse de que la muestra es negativa y no una baja concentración del anticuerpo anti-DV. **No interprete los resultados después de 20 minutos.**

Se recomienda ejecutar un control positivo conocido y un control negativo en cada actuación para asegurar el procedimiento de ensayo.

**INTERPRETACION DE RESULTADOS**

1. **Positivo:** Aparecen sobre la membrana la línea de control y al menos una línea de prueba. La aparición de la línea de prueba T1 indica un resultado positivo de IgM DV, la aparición de la línea de prueba T2 indica un resultado positivo de IgG DV, la aparición de las dos líneas de prueba T1 y T2 indican ambas un resultado positivo IgM e IgG DV. Cuanto menor sea la concentración de anticuerpo, más débil es la línea de prueba.
2. **Negativo:** Aparece solo la línea de control sobre la membrana. La ausencia de una línea de prueba indica un resultado negativo.
3. **No Válido:** Debe haber siempre una línea de control en la región de control independientemente del resultado de la prueba. Si la línea de control no se observa, la prueba es considerada no válida. Repetir la prueba usando un nuevo dispositivo.

Nota: Es normal tener una línea de control levemente aclarada con muestras positivas muy fuertes, siempre y cuando sea claramente visible.

**CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO**

1. Especificidad  
En un estudio de laboratorio-en casa, 63 muestras negativas confirmadas fueron evaluadas con la Prueba Tres-Líneas Anti Dengue (IgM & IgG) de Un Paso de Advanced Quality usando EIA como pruebas de referencia. El estudio dio un 95% de especificidad para la prueba.
2. Sensibilidad  
En el estudio mencionado anteriormente, la Prueba Tres-Líneas Anti Dengue (IgM & IgG) de Un Paso de Advanced Quality se evaluó con 32 muestras positivas confirmadas. La sensibilidad de esta prueba resultó ser de un 97% con respecto al consenso con los resultados de EIA.

**PRECAUCIONES**

1. Solo las muestras que no estén hemolizadas y en un buen estado de fluidez pueden ser usadas en esta prueba.
2. Las muestras frescas son mejores, pero pueden usarse muestras refrigeradas y congeladas.
3. No agitar la muestra. Inserte una pipeta justo debajo de la superficie de la muestra para colectar el espécimen.

## LIMITACIONES DE LA PRUEBA

A pesar de que un resultado positivo puede indicar infección con el virus del dengue, el diagnóstico de DV sólo puede hacerse por motivos clínicos, si una persona cumple con la definición de caso para DV establecido por los Centros para el Control de Enfermedades. Para muestras cuyos resultados fueron repetidamente positivos, se deben realizar pruebas complementarias más específicas. La prueba inmunocromatográfica por sí sola no puede ser utilizada para diagnosticar DV incluso si los anticuerpos contra DV están presentes en la muestra del paciente. Un resultado negativo en cualquier momento no excluye la posibilidad de infección DV.

## BIBLIOGRAFIA

1. Burke, D.S. 1983. Rapid Methods in the Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infections (Métodos Rápidos en el Diagnóstico de Laboratorio de Infecciones del Virus del Dengue), p. 72-84. In T. Pang and T. Pathmanathan (ed), Proceedings of the International Conference on Dengue/Dengue Hemorrhagic Fever (Actas de la Conferencia Internacional sobre el Dengue / Fiebre del Dengue hemorrágico). University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia. 2
2. Chen, L.K., C.L. Liao, C.G. Lin, S. C. Lai, C. I. Liu, S.H. Ma, Y.Y. Huang, and Y. L. Lin. 1996. Persistence of Japanese Encephalitis Virus is Associated with Abnormal Expression of Nonstructural Protein NS1 in Host Cells (La Persistencia del Virus de la Encefalitis Japonesa Está Asociada con la Expresión Anormal de la Proteína NS1 No Estructural en Células Huésped). *Virology* 217:220-229.
3. Gubler, D.J. 1997. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever: its History and Resurgence as a Global Public Health Problem (Dengue y Fiebre de Dengue Hemorrágico: Su Historia y Resurgimiento Como Problema Global de Salud Pública), p. 1-22. In D. J. Gubler and G. Kuno (ed.), *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever (Dengue y Fiebre de Dengue Hemorrágico)*. CAB International, New York, N.Y. 4
4. Gubler, D.J. 1998. *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*. Clin. Microbiol.
4. Halstead, S.B., H. Shotwell, and J. Casals. 1973. Studies on the Pathogenesis of Dengue Infection in Monkeys II. Clinical Laboratory Responses to Heterologous Infection (Estudios Sobre la Patogénesis de la Infección por Dengue en Monos II. Respuestas de Laboratorio Clínico a la Infección Heteróloga). *J. Infect. Dis.* 128:15-22. [Medline] 6
5. Halstead, S.B., S. Rojanasuphot, and N. Sangkawibha. 1983. Original Antigenic Sin in Dengue (El Pecado Original Antigénico en Dengue). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 32:154-156. [Abstract/Free Full Text] 7. Halstead, S.B. 1988. Pathogenesis of Dengue: Challenge to Molecular Biology (Patogénesis del Dengue: Desafío Para la Biología Molecular). *Science* 239:476-481.
6. Innis, B.L., A. Nisalak, S. Nimmannitya, S. Kusalerdchariya, V. Chongswasdi, S. Suntayakorn, P. Puttisri, and C. H. Hoke, 1989. An Enzyme-linked Immunosorbent Assay to Characterize Dengue Infections Where Dengue and Japanese encephalitis Co-circulate (Un Ensayo Ligado a la Enzima Inmunoabsorbente para Caracterizar las Infecciones del Dengue Donde el Dengue y la Encefalitis Japonesa Co-circulan). *Am J. Trop. Med. Hyg.* 40:418-427.