

MS 10310030096

Imuno-Rápido Dengue IgG/IgM

Kit para determinação de IgG/IgM anti-virus da Dengue por método imunocromatográfico.

Rapid chromatographic immunoassay kit for detection of Dengue IgG/IgM anti-virus.

Kit para a determinación del virus da Dengue IgG/IgM por método inmunocromatográfico

REF 626010-R: 10 determinações / determinations / determinaciones

REF 626020-R: 20 determinações / determinations / determinaciones

REF 626025-R: 25 determinações / determinations / determinaciones

REF 626040-R: 40 determinações / determinations / determinaciones



WAMA Diagnóstica
Rua Aldo Germano Klein, 100 - CEAT
CEP 13560-971 - São Carlos - SP - Brasil
Fone 55 16 3377.9977 / Fax 55 16 3377.9970
www.wamadiagnostics.com.br

OBELIS SA
Avenue de Tervuren, 34 bte 44, 1040
Brussels - Belgium / www.obelis.net

PORTUGUÊS

MPORTÂNCIA CLÍNICA

A Dengue é uma arbovirose causada por um Flavivirus, pertencente à família Flaviviridae, e transmitida pelo mosquito Aedes aegypti, apresentando quatro sorotipos conhecidos (Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4). Seu período de incubação é de 3 a 15 dias, com média de 5 a 6 dias. Os sintomas clínicos são caracterizados por febre alta (39°C a 40°C), de início abrupto, seguido de cefaléia, mialgia, prostração, artralgia, dor retroorbital, astenia, anorexia, náuseas, vômitos, exantema e prurido cutâneo. As formas hemorrágicas da doença são as mais graves e podem ocorrer: gengivorragia, petéquias e equimoses, gastroenterorragia, choque e morte. O achado laboratorial importante é a trombocitopenia. A febre hemorrágica da Dengue ocorre em 2 a 4% dos indivíduos reinfetados.

Devido à sua alta morbidade e mortalidade a Dengue é considerada uma das mais importantes doenças virais. Ela se concentra principalmente em áreas tropicais e subtropicais do mundo, sendo que as epidemias ocorrem durante ou imediatamente após períodos chuvosos. Estima-se que 2,5 bilhões de pessoas residam em áreas com risco potencial de transmissão do vírus. No Brasil, entre 1990 e 2000, os sorotipos Den-1 e Den-2 se disseminaram, com registro de epidemias principalmente nos grandes centros urbanos do Sudeste e Nordeste. Em 2003, os sorotipos Den-1, Den-2 e Den-3 foram isolados em 23 Estados e observou-se um número crescente de internações por febre hemorrágica da Dengue. A doença tem ocorrido de forma endêmica, com picos epidêmicos nos primeiros quadrimestres anuais e circulação dos sorotipos Den-1, Den-2 e Den-3. Essa situação, associada à limitada efetividade no controle do vetor e à ausência de uma vacina eficaz, aumentou o risco da ocorrência de febre hemorrágica e síndrome do choque da Dengue.

Atualmente, os testes rápidos se tornaram uma forma segura para o diagnóstico da infecção primária e secundária da Dengue, pois as informações obtidas são essenciais para a tomada de conduta do paciente. Estas informações estão associadas à resposta imune, uma vez que a produção de IgM por volta do 5º ao 8º dia do aparecimento dos sintomas, persistindo, geralmente, por 30 a 60 dias, embora, em alguns casos, podem estar presentes por alguns meses, indica uma infecção recente ou fase aguda da doença. Enquanto que a produção de IgG por volta do 14º dia, podendo persistir por toda a vida, caracteriza uma infecção progressiva. Como a infecção por um subtipo não confere imunidade aos demais subtipos, podem ocorrer reinfecção ou infecção secundária, com aumento de IgG específica após 1 a 2 dias do aparecimento dos sintomas e surgimento de IgM específica mais tardiamente.

O **Imuno-RÁPIDO DENGUE IgG/IgM** da WAMA Diagnóstica é um teste imunocromatográfico, fase sólida, para a detecção qualitativa e diferencial de

anticorpos anti-IgG e anti-IgM contra os 4 sorotipos do vírus da Dengue em soro e plasma humano (EDTA, Citrato de sódio e Heparina).

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Quando imunoglobulinas específicas da Dengue, IgG e/ou IgM, estão presentes na amostra, elas ligam-se aos antígenos recombinantes (DEN-1, DEN-2, DEN-3 ou DEN-4) do envelope viral conjugados com ouro coloidal. Esta reação forma um complexo antígeno-anticorpo que migra por capilaridade pela membrana da placa-teste e são capturados por anti-IgG e/ou anti-IgM humanas imobilizadas em duas áreas distintas, determinando o surgimento de uma banda rosa característica nas áreas correspondentes. Se a amostra não contiver anticorpos anti-Dengue, nenhuma banda colorida aparecerá nas respectivas áreas. Um reagente controle imobilizado na membrana da placa-teste determinará o surgimento de uma terceira banda rosa, cuja presença demonstrará que os reagentes estão funcionando corretamente (área controle °C).

APRESENTAÇÃO DO KIT

REF 626010-R: (10 determinações)

1. Placa – Teste: 10 unidades
2. Solução Diluente 1 x 1,2ml
3. Pipeta capilar: 10 unidades
4. Instrução para uso.

REF 626020-R: (20 determinações)

1. Placa – Teste: 20 unidades
2. Solução Diluente 1 x 3ml
3. Pipeta capilar: 20 unidades
4. Instrução para uso.

REF 626025-R: (25 determinações)

1. Placa – Teste: 25 unidades
2. Solução Diluente 1 x 3ml
3. Pipeta capilar: 25 unidades
4. Instrução para uso.

REF 626040-R: (40 determinações)

1. Placa – Teste: 40 unidades
2. Solução Diluente 2 x 3ml
3. Pipeta capilar: 40 unidades
4. Instrução para uso.

PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

PLACA TESTE (1): Pronto para uso. Estável até seu vencimento quando conservado entre 2 - 30°C.

SOLUÇÃO DILUENTE (2): Tampão fosfato contém azida sódica 0,095% como conservante.

Pronto para uso. Estável até seu vencimento quando conservado entre 2-30°C.

PIPETA CAPILAR (3): Pipeta capilar plástica, volume de 5µl.

Obs. O kit mantém o mesmo desempenho após a primeira utilização, é estável até a data de validade descrita no rótulo, desde que mantido na temperatura indicada (2-8°C).

MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO.

- Pipeta automática
- Papel absorvente.
- Recipiente para descarte de material.

AMOSTRAS

Usar soros ou plasma obtidos com EDTA, Citrato de sódio e Heparina, livres de hemólise, lipemia e contaminação.

Recomenda-se usar amostras frescas. Se isto não for possível, as amostras devem ser conservadas em geladeira entre 2-8 °C por 1 semana. Para longo tempo devem ser mantidas no freezer a -20°C.

ATENÇÃO: Se a amostra foi mantida no freezer, ela deverá ser descongelada e homogeneizada completamente, mantendo-a, posteriormente, em posição vertical para permitir que qualquer partícula que possa existir em suspensão seja sedimentada. Não agitar a amostra. Amostra diluída pode ocasionar resultado falso-negativo.

PROCEDIMENTO

Placa-Teste

1. Deixe a placa-teste, amostras e solução diluente atingirem a temperatura ambiente, caso estejam armazenadas em geladeira, antes de realizar o teste.
2. Remova a placa-teste da embalagem e use imediatamente.
3. Coloque a placa-teste em uma superfície plana e seca.
4. Adicionar 5µl da amostra, para isto utilizar uma micropipeta ou a pipeta capilar (3), no espaço destinado para esta, marcada com "S".

Obs.: Quando a pipeta capilar (3) for utilizada, pressionar a pipeta e depois coloca-la na amostra, soltando devagar até a amostra atingir a marca. Encostar levemente a pipeta na área marcada com "S" e pressionar-a para dispensar a amostra na membrana.

5. Adicionar 3 gotas (90µl) da solução diluente no orifício destinado para esta.

6. Fazer a leitura dos resultados entre 15 e 20 minutos. Não considerar resultados lidos após 20 minutos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

NEGATIVO

Somente uma banda rosa-clara aparecerá na área do controle (C). Não foram detectados anticorpos IgG e IgM anti-dengue. Faça um novo teste após 3 a 5 dias se a infecção por dengue ainda é suspeita.

POSITIVO para IgM (infecção primária da dengue)

Aparecerá duas bandas rosa clara, uma na área (M) e outra na área do controle (C).

POSITIVO para IgG (infecção secundária ou passada da dengue)

Aparecerá duas bandas rosa clara, uma na área (G) e outra na área do controle (C).

POSITIVO para IgG e IgM (infecção primária tardia ou infecção secundária precoce da dengue)

Aparecerá três bandas rosa clara, uma na área (M), outra na área (G) e outra na área do controle (C).

Obs.: Qualquer intensidade de cor rosa nas áreas testes deve ser considerada como positivo.

INVALIDO

Se não surgir nenhuma banda visível nas áreas (M), (G) e do controle (C), ou se não surgir banda na área do controle (C).

Os resultados devem ser ignorados após o tempo determinado para leitura.

Repetir a análise utilizando uma nova placa-teste.

VALORES ESPERADOS

O **IMUNO-RÁPIDO DENGUE IgG/IgM** foi comparado com teste de inibição da hemaglutinação e os resultados desta comparação, seguem abaixo:

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

	102 amostras positivas para IgG e IgM		Sensibilidade
	Positivos	Negativos	
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	101	1	101/102x100%=99%

	200 amostras negativas para IgG e IgM		Especificidade
	Positivos	Negativos	
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	4	196	196/200x100%=98%

Sensibilidade: 99%

Especificidade: 98%

PRECISÃO

Intra-Ensaio

Dentro da precisão executada, 10 replicas em 4 amostras foram determinadas: uma negativa, uma baixa positiva, uma médio positiva e uma alto positiva. A negativa, a baixo positivo, a médio positivo e a alto positiva foram corretamente identificadas em mais de 99% das vezes.

Inter-Ensaio

Entre a precisão executada, 10 ensaios independentes nas mesmas 4 amostras foram determinadas: uma negativa, uma baixa positiva, uma médio positiva e uma alto positiva. Três lotes diferentes do **IMUNO-RÁPIDO DENGUE IgG/IgM** foram testados por um período de 3 meses usando amostras negativas, baixas positivas, média positivas e alta positivas. As amostras foram corretamente identificadas em mais de 99% das vezes.

LIMITAÇÕES DE USO

1. O **IMUNO-RÁPIDO DENGUE IgG/IgM** (Soro e Plasma humanos) é usado somente para diagnóstico "in vitro". O teste deverá ser usado para detecção de anticorpos anti-dengue somente em amostras de soro e plasma humano. Nem o valor quantitativo nem a taxa de aumento da concentração de anticorpos anti-dengue podem ser determinados, pois se trata de um teste qualitativo.
2. O **IMUNO-RÁPIDO DENGUE IgG/IgM** somente indicará a presença de anticorpo anti-dengue nas amostras, não devendo ser usado como critério exclusivo para o diagnóstico de infecção pelo vírus da dengue.
3. Como em todos os testes diagnósticos, os resultados devem ser interpretados junto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
4. Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, um teste adicional realizado com outros métodos clínicos é recomendado. Um resultado negativo não impede a possibilidade de infecção pelo vírus da dengue.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".
2. Ler cuidadosamente as instruções de uso antes de realizar o teste.
3. A data de validade corresponde ao último dia do mês assinalado na etiqueta do envelope da placa-teste e da caixa do kit. Não usar componentes do kit após a data de validade.
4. Deve-se evitar expor o kit a temperaturas elevadas, bem como diretamente ao sol.
5. Não congelar a placa-teste, pois isto causará deterioração irreversível.
6. Como se emprega azida sódica a 0,095% como conservante, o descarte dos reativos deve ser acompanhado de grandes volumes de água para evitar o acúmulo de resíduos de azida nos encanamentos, pois esta pode reagir com chumbo e cobre formando sais altamente explosivos. Além disso, a azida é tóxica quando ingerida.
7. Deixar os reagentes adquirirem a temperatura ambiente antes de iniciar os testes.
8. Não substituir componentes deste kit com o de outros fabricantes, nem usar componentes de lotes e códigos diferentes.
9. Descarte o material conforme regulamentações locais.
10. Utilizar as Boas Práticas de Laboratório (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.

TERMO DE GARANTIA

A WAMA Diagnóstica garante a troca deste conjunto diagnóstico, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e que seja comprovado por sua assessoria técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A WAMA e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.

ENGLISH

SUMMARY

Dengue viruses is transmitted by the mosquito Aedes aegypti. There are four known distinct serotypes (Den1, Den-2, Den-3 and Den-4). Incubation period is

from 3 to 15 days, the average is from 5 to 6 days. Dengue infection is associated with high fever (39° to 40°C), headache, muscle pain, myalgia, morbidity, arthralgia, retro-orbital pain, asthenia, anorexia, nausea, puke, exanthema and skin rash. Dengue hemorrhagic fever is the most serious disease and includes gingival hemorrhage, petechia and ecchymosis, gastroenterorrhagic, shock and death. The most Laboratory finding is thrombocytopenia. In 2 to 4% of the patients infected a second time, dengue hemorrhagic fever is more likely to occur.

Dengue is considered to be the most important viral disease due to the human morbidity and mortality it causes. Dengue is widely distributed throughout the tropical and subtropical areas of the world. Epidemic period is likely to occur during or immediately after the rainy seasons. It is known that around 2.5 millions of people live in areas where the transmission of Dengue is more likely to occur. In Brazil, from 1990 to 2000, Den-1 and Den-2 serotypes disseminated mainly in urban areas of southeast and northeast. In 2003, Den-1, Den-2 and Den-3 serotypes were researched in 23 Brazilian states and was registered a crescent number of Dengue hemorrhagic fever. Dengue is endemic, with epidemic peaks in the first four months of the year. The inefficient vector control associated with the lack of an efficient vaccine increased the causes of Dengue hemorrhagic fever.

Nowadays, rapid test is the safest form to diagnose the primary and secondary infection of Dengue and it is essential for patient management. Such results are associated to immune response, which includes IgM antibodies produced by 5° to 8° day of the symptoms and it persists for 30-60 days, and indicates a recent infection or acute phase of the disease.

IgG appears on the 14° day and it can persist for life. As the infection for one subtype does not give immunity to other subtypes, secondary infections show that IgG rises within 1 to 2 days after the onset of symptoms and induces IgM specifier later.

Wama Diagnostica Imuno-Rápido DENGUE IgG/IgM is a solid phase immunochromatographic assay for the rapid, qualitative and differential detection of IgG and IgM antibodies against the four serotypes of Dengue virus in human serum and plasma (EDTA, Sodium citrate and Heparin).

METHOD PRINCIPLE

Specific immunoglobulin of Dengue IgG and/or IgM present in the sample bind to recombinant antigens (Den-1, Den-2, Den-3 and Den4) of viral envelope conjugated to colloidal gold. This reaction forms a complex antigen-antibody which migrates along the length of the test device by capillary action and is captured by anti-human IgG and/or anti-human IgM immobilized in two test lines and generates a pink colored band.

If IgG and/or IgM antibodies to Dengue virus are not present in the sample, there is no color appearance in the respective areas. A reagent control immobilized on the membrane of the test device will determine the appearance of a third pink colored band in case the test procedure is performed properly and the test reagents of control line are working.

KIT PRESENTATION

REF 626010-R: (10 determinations)

1. Test Device : 10 units
2. Assay Diluent 1x 1.2ml
3. Capillary Pipette : 10 units
4. Package Insert

REF 626020-R: (20 determinations)

1. Test Device : 20 units
2. Assay Diluent 1x 3.0ml
3. Capillary Pipette : 20 units
4. Package Insert

REF 626025-R: (25 determinations)

1. Test Device : 25 units
2. Assay Diluent 1x 3.0ml
3. Capillary Pipette : 25 units
4. Package Insert

REF 626040-R: (40 determinations)

1. Test Device : 40 units
2. Assay Diluent 2x 3.0ml
3. Capillary Pipette : 40 units
4. Package Insert

REAGENT STABILITY

Test Device (1): Ready for use. Stable if stored at 2-30°C up to expiration date. **Assay Diluent (2):** Phosphate buffer. Contains Sodium azide 0.095%. Ready for use. Stable if stored at 2-30°C up to expiration date.

Capillary pipette (3): 5µl Plastic capillary pipette. **Obs.:** The kit presents good performance after being used for the first time. It's stable up to the expiration date if stored at 2-8°C.

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Automatic pipette
- Paper towel
- Discard material container
- Paper towels

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Serum or plasma specimens may be used with this test. Plasma obtained from EDTA, Sodium citrate and Heparin and free of haemolysis, lipaemic and contamination are preferable. Fresh specimens are recommended, otherwise, store the specimens refrigerated at 2-8°C for 1 week. If longer storage is required, the specimens should be stored in freezer at -20°C.

ATTENTION

If the specimen was frozen, it should be completely thawed, homogenized and placed in a vertical position to allow the sedimentation of any particle. Do not shake the specimen. Diluted specimen can cause false negative result.

PROCEDURE

- Let test device, specimens and assay diluent to reach to room temperature, if they are stored refrigerated, prior to test.
- Remove test device from individually sealed pouch and use it immediately.
- Place test device on a dry and flat surface.
- Using a micropipette or a capillary pipette (3), add 5µl of serum or plasma into the sample well marked "S".

Obs. When using capillary pipette (3), squeeze the pipette and place it into the specimen, let the specimen reach the mark on the pipette slowly. Slightly touch the pipette on sample well marked "S" and squeeze it to dispense the specimen on membrane.

- Add 3 drops (90µl) of assay diluent into the assay diluent well round shaped.
- Interpret test results from 15 to 20 minutes. Do not read the results after 20 minutes.

INTERPRETATION

NEGATIVE

One pink band appears in the control area (C). No Dengue infection was detected. Make a new test after 3 to 5 days if dengue infection is apparent.

IgM POSITIVE (Primary dengue infection)

Two pink bands appear, one in the (M) area and the other in the control area (C).

IgG POSITIVE (Secondary or past dengue infection)

Two pink bands appear, one in the (G) area and the other in the control area(C).

IgG and IgM POSITIVE (Late primary or early secondary dengue infection)

Three pink bands appear in the (M), (G) and (C) areas.

OBS. Any colored band in the (M) and (G) areas should be interpreted as POSITIVE.

INVALID No colored band appears in the (M), (G) and (C) or no band in the control area (C). Do not take into account any result after the reading time recommended.

EXPECTED VALUE

Imuno-Rápido DENGUE IgG/IgM was compared to inhibition test of hemagglutination and the results are showed below:

SENSITIVITY AND SPECIFICITY

	102 IgG/IgM positive specimens		
	Positive	Negative	Sensitivity
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	101	1	101/102x100%=99%

	200 IgG/IgM negative specimens		
	Positive	Negative	Sensitivity
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	4	196	196/200x100%=98%

Sensitivity: 99%

Specificity: 98%

PRECISION

Intra-assay

Within-run precisions have been determined by the testing of four specimens 10 times: 1 negative, 1 low positive, 1 medium positive and 1 high positive. All values were correctly identified 99% of the time.

Inter-assay

Between-run precisions were determined by 10 independent testing on the same 4 specimens: 1 negative, 1 low positive, 1 medium positive and 1 high positive.

Three different lots of IMUNO-Rápido DENGUE IgG/IgM were tested for 3 months using negative, low positive, medium positive and high positive specimens. All values were correctly identified 99% of the time.

LIMITATION OF THE TEST

1. IMUNO-Rápido DENGUE IgG/IgM (human serum and plasma) is for in vitro diagnostic use only. This test detects the presence of antibodies anti-Dengue and it should be used only with human serum and plasma. Neither quantitative value nor antibodies anti-Dengue concentrations can be determined since this test is qualitative.

2. IMUNO-Rápido DENGUE IgG/IgM detects the presence of antibodies anti-Dengue in the specimens and should not be used as the sole criteria for the diagnosis of Dengue virus infection.

3. As with all diagnostic tests, all results must be considered with other clinical information available to the physician.

4. If the test is negative and clinical symptoms persist, additional follow-up using other clinical methods is recommended. A negative result does not preclude the possibility of infection of dengue virus.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

- For in vitro diagnostic use only.
- The instructions must be read prior to testing.
- The expiration date is indicated by the last day of the month printed on the test device pouch and on the kit box. Do not use kit components beyond the expiration date.
- Protect the kit from heat and sunlight.
- Do not freeze the test device.
- Sodium azide 0.095% may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Upon disposal of liquid, flush with large volumes of water to prevent azide buildup. Sodium azide might be toxic if ingested.
- Allow all kit components and specimen reach to room temperature prior to testing.

8. Do not interchange kit components with those from sources other than the same catalog number from WAMA DIAGNOSTICA.

9. Disposal in accordance with local regulation.

10. Follow good laboratory practices (GLP) in storing, dispensing and disposing of these materials.

WARRANT

WAMA Diagnóstica replaces this kit since it is not beyond expiration date. The returned kit must be evaluated by Wama´s technical support. The warranty will be invalid and kit will not be replaced if technical support finds evidence that running, handling and storage were not properly followed.

ESPAÑOL

IMPORTANCIA CLÍNICA

La Dengue es una arbovirosis causada por el Flavivirus, perteneciente a la familia Flaviviridae, y transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*, presentando cuatro suero tipos conocidos(Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4). Su periodo de incubación es de 3 a 15 días, con media de 5 a 6 días. Los síntomas clínicos son caracterizados por fiebre alta (39°C a 40°C), de inicio abrupto, seguido de cefalea, mialgia, postración, artralgia, dolor retro orbitario, astenia, anorexia, náuseas, vómitos, exantema y prurito cutáneo. Las formas hemorrágicas de las de enfermedades son las mas graves y pueden ocurrir: gingivorragia, petequias y equimosis, gastroenterología, choque y muerte. O hallazgo de laboratorio importante es la trombocitopenia. La fiebre hemorrágica de la dengue en 2 a 4 % de los individuos reinfectedos.

Debido a la su alta morbilidad y mortalidad la dengue se considera una de las mas importantes enfermedad virales. Ella se concentra principalmente en áreas tropicales y subtropicales del mundo, sendo que las epidemias ocurren durante o inmediatamente después de los períodos lluviosos. Estima-se que 2,5 billones de personas residen en áreas con riesgo potencial de transmisión del virus.

En Brasil, entre 1990 e 2000, los suero tipos Den-1 e Den-2 se diseminaron, con registro de epidemias principalmente en los grandes centros urbanos del Sudeste y Nordeste. En 2003, los suero tipos Den-1,Den-2 e Den-3 fueron aislado en 23 provincias y se observo un número creciente de internaciones por fiebre hemorrágica de la dengue. La enfermedad tiene ocurrido de forma endémica, con picos epidémicos en los primeros cuatrimestres anuales y circulación de los suero tipos Den-1, Den-2 y Den-3.Esa situación , asociada a la limitada efectividad en el control de vector y la ausencia de una vacuna eficaz, aumento el riesgo de la ocurrencia de fiebre hemorrágica y síndrome de choque de la dengue.

Actualmente, los testes rápidos se tomaran una forma segura para el diagnóstico de la infección primaria y secundaria de la dengue, pues las informaciones son esenciales para la tomada de conducta del paciente. Estas informaciones están asociadas a la respuesta inmune, una vez que la producción de IgM por volta del 5º al 8º día del apareamiento de los síntomas, persistiendo, generalmente, por 30 a 60 días, aun que, en algunos casos, pueden estar presentes por algunos meses, indica una infección reciente o fase aguda de la enfermedad.

Mientras que la producción de IgG por volta del 14º día, pudiendo persistir por toda la vida, caracteriza una infección pregressa.

Como la infección por un subtipo no confiere inmunidad a los demás subtipos, pueden ocurrir reinfección o infección secundaria, con aumento de IgG especifica después de 1 a 2 días del apareamiento de los síntomas y surgimiento de IgM especifica mas tardamente.

O Imuno-Rápido Dengue IgG/IgM de la Wama Diagnóstica es un teste inmunocromatografico, fase sólida, para la detección cualitativa y diferencial de anticuerpos anti-IgG y anti-IgM contra los 4 suero tipos del virus de la dengue en suero y plasma humano (EDTA, Citrato de sodio y Heparina).

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Cuando inmunoglobulinas especificas de la dengue, IgG e/o IgM, están presentes en la muestra, ellas se ligan a los antígenos recombinantes (DEN-1, DEN-2, DEN-3 o DEN-4) del sobre viral conjugados con oro coloidal. Esta reacción forma un complejo antígeno-anticuerpo que migra por capilaridad por la membrana de la placa-teste y son capturados por anti-IgG e/o anti-IgM humanas inmovilizadas en dos áreas distintas, determinando el surgimiento de una banda rosada característica en las áreas correspondientes. Si la muestra no contuviere anticuerpos anti-dengue, ninguna banda colorida aparecerá en los reactivos áreas. Un reactivo control inmovilizado en la membrana de la placa-teste determinará el surgimiento de una tercera banda rosada, cuya presencia demostrará que los reactivos están funcionando correctamente (área controle "C").

PRESENTACION DEL KIT

REF 626010-R: (10 determinaciones)

- Placa-teste: 10 unidades
- Solución Diluyente 1x1,2 ml
- Pipeta capilar: 10 unidades
- Instrucciones para el uso

REF 626020-R: (20 determinaciones)

- Placa-teste: 20 unidades
- Solución Diluyente 1x3 ml
- Pipeta capilar: 20 unidades
- Instrucciones para el uso

REF 626035-R: (25 determinaciones)

- Placa-teste: 25 unidades
- Solución Diluyente 1 x 3 ml
- Pipeta capilar: 25 unidades
- Instrucciones para el uso

REF 626040-R: (40 determinaciones)

- Placa-teste: 40 unidades
- Solución Diluyente 2x3 ml
- Pipeta capilar
- Instrucciones para el uso

PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Placa-teste (1): Listo para el uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando conservado entre 2-30°C.

Solución Diluyente (2): Tapón fosfato contiene azida sódica 0,095% como conservante. Listo para el uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando conservado entre 2-30°.

Pipeta Capilar (3): Pipeta capilar plástica, volumen 5ul.

El kit mantiene el mismo desempeño después del primer uso, y es estable hasta la fecha de caducidad desde que sea mantenido en la temperatura de 2-8°C.

MATERIAL NECESARIO, PERO NO FORNECIDO

-Pipeta automática

-Papel absorbente

-Recipiente para descarte del material

MUESTRA

Usar sueros o plasmas obtenidos con EDTA, Citrato de sodio y Heparina, libres de hemolisis, lipemia y contaminación.

Se recomienda usar muestras frescas. Si esto no es posible, las muestras deben ser conservadas en nevera entre 2-8°C por 1 semana. Para largo tiempo deben ser mantenidas en el congelador a -20°C.

Atención: Si la muestras son mantenida en el congelador, ella deberá ser descongelada, homogeneizada completamente, mantenida, posteriormente, en posición vertical para permitir que cualquier partícula que pueda existir en suspensión sea sedimentada. No agitar la muestra. Muestra diluida puede ocasionar resultado falso-negativo.

PROCEDIMIENTO

Placa-teste

- Deje la placa-teste, muestras y solución diluyente atingieren la temperatura ambiente, caso estén almacenadas en nevera, antes de realizar el teste.
- Remueva la placa-teste del embalaje use inmediatamente.
- Coloque la placa-teste en una superficie plana y seca.
- Añadir 5ul de la muestra, para esto utilizar una micro pipeta o la pipeta capilar (3), en el espacio destinado para esta, marcada con la "S".

Obs.: cuando la pipeta capilar(3) es utilizada, presionar la pipeta y después colócala en la muestra, soltando de espacio hasta la muestra atingir la marca. Encostar levemente la pipeta en el área marcada con la "S" y presiónala para dispensar la muestra en la membrana.
- Añadir 3 gotas (90ul) de la solución diluyente en el orificio destinado para esta.
- Hacer la lectura de los resultados entre 15 e 20 minutos. No considerar resultados leídos después de 20 minutos.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Negativo

Solamente una banda rosada-clara aparecerá en el área del control (C).No fueren detectados anticuerpos IgG y IgM anti-dengue. Haga un nuevo teste después de 3 a 5 días si la infección por dengue todavía es sospechada.

Positivo para IgM (infección primaria de la dengue)

Aparecerán dos bandas rosada clara, una en el área (M) y otra en área del control (C).

Positivo para IgG (infección secundaria o pasada de la dengue)

Aparecerán dos bandas rosada clara, una en el área (G) y otra en el área del control (C).

Positivo para IgG y IgM (infección primaria tardía o infección secundaria precose de la dengue).

Aparecerán tres bandas rosada clara, una en el área (M), otra en el área (G) y otra en el área control (C).

Inválido

Si no surgir ninguna banda visible en las áreas (M), (G) y del control (C), o se no surgir banda en el área del control (C).

Los resultados deben ser ignorados después del tiempo determinado para lectura.

Repetir el análisis utilizando una nueva placa-teste.

VALORES ESPERADOS

O Imuno-Rápido Dengue IgG/IgM es comparado con teste de inhibición de la hemoaaglutinación y los resultados de esta comparación siguen abajo:

	102 muestras positivas para IgG e IgM		
	Positivos	Negativos	Sensibilidad
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	101	1	101/102x100%=99%

	200 muestras negativas para IgG e IgM		
	Positivos	Negativos	Especificidade
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	4	196	196/200x100%=98%

Sensibilidad: 99%

Especificidad: 98%

PRECISION

INTRA-ENSAYO

Dentro de la precisión ejecutada, 10 replicas en 4 muestras fueron determinadas: una negativa, una bajo positiva, una medio positivo y una alta positiva. La negativa, la bajo positivo, la medio positivo y a alto positiva fueron

correctamente identificadas en mas de 99% das veces.

Inter-Ensayo

Entre la precisión ejecutada, 10 ensayos independientes en las mismas 4 muestras fueron determinadas: una negativa, una bajo positiva, una medio positiva y una alto positiva. Tres lotes diferentes de imuno-Rápido Dengue IgG/IgM fueron testados por un periodo de 3 meses usando muestras negativa, bajo positiva, media positivas y alta positivas. Las muestras fueron correctamente identificadas en mas de 99% de las veces.

LIMITACIONES DE USO

1.El Imuno-Rápido Dengue IgG/IgM (Suero y Plasma humanos) es usado solamente para diagnóstico in vitro. El teste deberá ser usado para la detección de anticuerpos anti-dengue solamente en muestras de suero y plasma humanos. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de concentración de anticuerpos anti-dengue pueden ser determinados, pues se trata de un teste cualitativo.

2.El Imuno-Rápido Dengue IgG/IgM solamente indicará la presencia del anticuerpo anti-dengue en las muestras, no debe ser usado como criterio exclusivo para el diagnóstico de infección por el virus de la dengue.

3.Como en todos los testes diagnósticos, los resultados deben ser interpretados junto con otras informaciones clínicas disponibles para el médico.

4.Si el resultado del teste es negativo y los síntomas clínicos persistieren, un teste adicional realizado con otros métodos clínico es recomendado. Un resultado negativo no impede la posibilidad de infección virus de dengue.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

1.Solamente para uso diagnostico in vitro

2.Ler cuidadosamente las instrucciones de uso antes de realizar el teste.

3.La fecha de caducidad corresponde al último día del mes enseñado en la etiqueta del sobre de la placa-teste y de la caja del Kit. No usar componentes del Kit después de la data de caducidad.

4.Debe se evitar exponer el kit y la temperaturas elevadas, tal como directamente al sol.

5. No congelar la placa-teste, pues eso causará deterioración irreversible.

6.Como si emplea azida sódica 0,095% como conservante, el descarte de los reactivos debe ser acompañado de grandes volúmenes de agua para evitar el acumulo de residuos de azida en las tuberías, pues esa puede reaccionar con el plomo y cobre formando sales altamente explosivos. Además, la azida sódica es tóxica cuando ingerida.

7.Dejar los reactivos adquirieren la temperatura ambiente antes de iniciar los testes.

8.No sustituir componentes de este Kit con el de otros fabricantes, ni usar componentes de lotes y códigos diferentes.











9. Descarte de lo material de acuerdo con las regulaciones locales.

10.Utilizar las Buenas Practicas de Laboratorio (BPL) en la conservación, manoseo y descarte de los materiales.

TERMINO DE GARANTIA

La WAMA Diagnostica garantiza el cambio de este conjunto diagnostico si desde el momento que el mismo esté dentro el plazo de caducidad y sea comprobado por su accesoría técnica de que no hubieron fallos en la ejecución, manoseo y conservación de este producto. La WAMA y sus distribuidores no se responsabilizan por los fallos en el desempeño del kit bajo condiciones.

BIBLIOGRAFIA/BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAFÍA	
1. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. WHO 2º Edition 1997.	
2. Jan Green et al. Evaluation of six immunossays for detection of dengue-virus specific immunoglobulin M and G antibodies. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 7(6) p 867-871, 2000.	
3. Songee L. ranch and Paul N. Levett. Evaluation of four methods for detection of immunoglobulin M antibodies to dengue virus. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 6(4) p 555-557, 1999.	

SIMBOLOGIA / SIMBOLS / SIMBOLOGIA			
	O conteúdo é suficiente para (n) testes Quantity sufficient for (n) tests O contenido es suficiente para (n) testes		Número do lote Lot Number Número del lote
	Data limite de utilização Expiry Date Fecha de la caducidad		Número do catálogo Catalog Number Número del catálogo
	Produto diagnóstico in vitro In vitro diagnostic Produto diagnóstico in vitro		Limite de temperatura Temperature Limite de temperatura
	Consultar instruções para uso Refer to user's instructions Consultar las instrucciones para el uso		Proteger do calor Keep away from sunlight Proteger del calor
	Representante Europeu European Representative Representante Europeu		Fabricado por Manufactured by Fabricado por