



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Informe final de investigación previo a la obtención del título de Licenciada
en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

Comportamiento del Dengue. Santo Domingo de los Tsáchilas, 2017-2018

Autora: Carolina Estefanía Teca del Campo

Tutora: Dra. María del Carmen Cordovez Martínez

Riobamba - Ecuador

2020

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

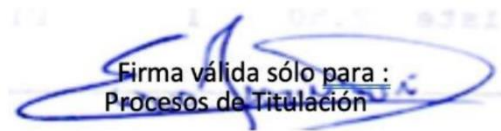
Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Comportamiento del Dengue. Santo Domingo de los Tsachilas, 2017-2018, dirigido por: la Dra. María del Carmen Cordovez Martínez, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final escrito del proyecto de investigación con fines de graduación en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:



Firmado electrónicamente por:
**XIMENA DEL ROCIO
ROBALINO FLORES**

Mgs. Ximena Robalino Flores
Presidente del Tribunal

.....
Firma



Mgs. Eliana Martínez Durán
Miembro del Tribunal

.....
Firma




Firmado electrónicamente por:
**CARLOS IVAN
PENAFIEL
MENDEZ**

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez
Miembro del Tribunal

.....
Firma

DECLARACIÓN EXPRESA DE TUTORÍA

Yo, María del Carmen Cordovez Martínez, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado: Comportamiento del Dengue. Santo Domingo de los Tsachilas, 2017-2018, propuesto por la Srta. Carolina Estefanía Teca del Campo, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a los interesados en hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



.....
Dra. María del Carmen Cordovez Martínez

Docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, corresponde exclusivamente a: Carolina Estefanía Teca del Campo y el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Nacional de Chimborazo.”

A handwritten signature in blue ink, consisting of several vertical and horizontal strokes, appearing to be the initials 'CET'.

.....
Carolina Estefanía Teca del Campo

230039446-3

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Jehová Dios por bendecirme, por guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis dos madres: Viviana Del Campo y Natividad Guerrero, por ser las principales promotoras de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado, de la misma manera a Víctor Romero, quien fue un apoyo importante para alcanzar con éxito este logro.

Agradezco a mis docentes de la Escuela de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional de Chimborazo, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, de manera especial, a la magister Ximena Robalino, directora de la carrera por su manera precisa de ayudar, guiar y cuidar a cada uno de los estudiantes, a la doctora María del Carmen Cordovez Martínez, tutora de mi proyecto de investigación quien me ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente, y al distrito de Salud Pública 23D01 por colaborar con el desarrollo de esta investigación.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a la Facultad de Salud, a la Escuela de Laboratorio Clínico e Histopatológico, a todos los profesores por ayudarme en mi formación académica. A mi familia, por estar siempre apoyándome en las diferentes etapas de este proceso universitario, a mis amigos que siempre estuvieron predispuestos a darme ánimo cuando sentía que no podía más y a todos los que con su granito de arena me ayudaron a llegar a cumplir esta meta.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	5
Objetivo General.....	5
Objetivos Específicos.....	5
CAPÍTULO I	6
MARCO TEÓRICO	6
Historia del Dengue.....	6
Definición.....	7
Vectores.....	8
Etiología.....	9
Epidemiología.....	10
Situación epidemiológica del Dengue en el Ecuador.....	11
Clasificación.....	11
Formas clínicas.....	12
Etapas de la enfermedad.....	13
Diagnóstico de laboratorio.....	14
Ensayo de inmunoabsorción enzimática para la detección de anticuerpos.....	15
CAPÍTULO II	17
METODOLOGÍA	17
Población.....	17
Muestra.....	17
Técnicas y procedimientos.....	17
Procesamiento estadístico.....	21
Consideraciones éticas.....	21
CAPÍTULO III	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Clasificación según síntomas y signos de dengue

Anexo 2. Oficio de aprobación del MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Dirección distrital 23D01 – Salud, para el uso de su base de datos.

Anexo 3. Inserto Panbio Dengue Early ELISA

Anexo 4. Inserto Panbio Dengue IgM ELISA

Anexo 5. Inserto Prueba rápida de Dengue en cassette (sangre entera/Suero/Plasma)

Anexo 6. SD Dengue Duo, Dengue NS1 + Ab Combo (11fk45, 11fk46)

RESUMEN

El dengue es una enfermedad infecciosa considerada un problema de salud pública, transmitida por la picadura del mosquito *A. aegyptis* y *A. albopictus*, presente en el Ecuador. Trabajo de tipo descriptiva, documental y no experimental, de corte transversal y retrospectiva, a partir de la información obtenida de la base de datos epidemiológica del Distrito Salud Pública 23D01, con el objetivo de determinar el comportamiento del dengue en la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas entre los años 2017-2018. La población y muestra estuvo conformada por los casos diagnosticados e incluidos en dicha base, de donde se recolectó y analizó la información descriptivamente. El cantón La Concordia fue el que presentó más casos de dengue (58%) entre los períodos analizados, a pesar de que en el 2018 el cantón Santo Domingo reportó mayor porcentaje (77%). En el 2017 hubo aumento de casos entre las semanas epidemiológicas 16-20 y 21-25 con 23,3% y 25,3% respectivamente, mientras que en el 2018 existieron pocos casos diagnosticados durante todas las semanas. Según las manifestaciones del dengue, el más notificado fue sin signos de alarma (98,89%), seguido con signos de alarma (1,03%) y grave con 0,07%. El grupo etario 20-49 años fue el más afectado en este período. Se concluye que en el 2017 se reportaron más casos dengue que en el 2018; predominó el dengue sin signos de alarma, sobre todo en edades entre 20-49 años aproximadamente. Sugiriendo promover campañas de Educación para la Salud, involucrando al Ministerio de Salud Pública y autoridades pertinentes.

Palabras clave: Aedes, Dengue, epidemiología, serotipo, genotipo.

ABSTRACT

Dengue is an infectious disease considered a public health problem, transmitted by the bite of the mosquito *A. aegyptis* and *A. albopictus*, present in Ecuador. Descriptive, documentary, and non-experimental work, cross-sectional and retrospective, based on the information obtained from the epidemiological database of the Public Health District 23D01, to determine the behavior of dengue in the province of Santo Domingo de the Tsachilas between the years 2017-2018. The population and sample consisted of the cases diagnosed and included in said database, from which the information was descriptively collected and analyzed. The La Concordia canton was the one that presented the most cases of dengue (58%) among the periods studied, even though in 2018, the Santo Domingo canton reported the highest percentage (77%).

2017 there was an increase of cases on epidemiological weeks 16-20 with 23.3% and 21-25 with 25.3%. While 2018 there were few cases diagnosed all weeks.

According to the dengue manifestations, the most reported was without alarm signs (98.89%), followed by alarm signs (1.03%) and severe with 0.07%. The age group, 20-49 years, was the most affected in this period. It is concluded that in 2017 more dengue cases were reported than in 2018; Dengue prevailed without warning signs, especially in ages between 20-49 years approximately. It was suggesting promoting Health Education campaigns, involving the Ministry of Public Health and pertinent authorities.

Keywords: Aedes, Dengue, epidemiology, serotype, genotype.



SIGNATURE

Reviewed by: Maldonado, Ana
Language Center English Professor

INTRODUCCIÓN

El dengue es una infección vírica transmitida por la picadura de las hembras infectadas de mosquitos del género *Aedes*. Es causada por un arbovirus perteneciente a la familia *Flaviviridae* y existen en la actualidad cuatro serotipos de virus del Dengue¹.

En las últimas décadas a nivel mundial se ha visto un incremento en la incidencia del Dengue, siendo los casos asintomáticos el mayor por ciento, lo que implica que el número real de casos esté subnotificado o mal clasificados¹.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recibe anualmente notificaciones de casos nuevos de los Estados Miembros, lo que le ayuda a tener control de la evolución del Dengue, como por ejemplo el número de casos notificados en el 2010 fue de 2,2 millones y pasó a ser más de 3,4 millones en 2016. Aunque se dice que la cifra total a nivel mundial es incierta, pues existen países que no se pronuncian al respecto¹.

Hasta la década del 70 del pasado siglo, nueve países habían sufrido epidemias de Dengue grave, sin embargo, en la actualidad es una enfermedad endémica en más de 100 países de diferentes regiones de África, Mediterráneo Occidental, Asia Sudoriental, Pacífico Occidental y las Américas, siendo las tres últimas las más gravemente afectadas¹.

Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) 3000 millones de personas, vive en áreas de riesgo de Dengue, que a menudo es la principal causa de la enfermedad en estas zonas. Alrededor de 100 millones de personas enferman por esta infección y de ellas mueren 22.000 por la forma grave².

Esta es una enfermedad que ha azotado durante años diferentes regiones del mundo. En las regiones de las Américas, Asia Sudoriental y Pacífico Occidental se registraron 1,2 millones de casos en el 2008 y para el 2015 fueron reportados unos 3,2 millones, según los datos oficiales presentados a la OMS por los Estados Miembros¹. Sólo en la región de las Américas se notificaron 2,35 millones de casos, como Dengue grave fueron diagnosticados unos 102.100 pacientes y 1.181 defunciones¹.

La enfermedad antiguamente era de países tropicales exclusivamente, pero a medida que se ha desarrollado el mundo y ha aumentado el tráfico aéreo en el traslado de personas con objetivos turísticos o de otra índole, a zonas endémicas del vector transmisor: el mosquito *Aedes aegyptis* (*Ae. Aegyptis*) y *Aedes albopictus* (*Ae. Albopictus*), se ha visto la producción de brotes epidémicos explosivos como en Europa, donde se notificó en el 2010, casos importados de dengue en Francia y Croacia. En el archipiélago de Madeira (Portugal) también en el 2012 se detectaron más 2000 casos, y se registraron casos importados en otros 10 países europeos, además de Portugal continental¹.

Desde el 2015 se han registrados brotes de esta infección vírica en Delhi (India), en el estado homónimo de los Estados Unidos de América, la isla de Hawái con un brote de 181 casos, continuando la transmisión y se reportan otros brotes en estados insulares del Pacífico como en la Polinesia Francesa y Tonga¹.

A nivel mundial, el 2016 fue un año caracterizado por grandes brotes de dengue. Sin embargo, en el 2017 existió una reducción de casos. Por ejemplo, en las Américas hubo un descenso del 73% de un año al otro (2016: 2 177 171 / 2017: 584 263); excepto Aruba, Panamá y Perú que registraron un aumento de los casos durante este año. Además, también se registró un descenso del número de casos de Dengue grave durante este periodo¹.

La bibliografía consultada refleja que luego del brote de Zika del 2016 ha existido una disminución de los casos de Dengue, pero aún se desconocen las causas de esta situación. Entre el 2017-2018 fue un periodo marcado por un descenso en el número de casos, a diferencia del 2019 en que se observó un incremento como en la región del Pacífico Occidental: Australia, Camboya, China, República Democrática Popular Lao, Malasia, Filipinas, Singapur y Viet Nam. También se presentaron brotes en el Congo y Tanzania, pertenecientes a la región de África¹.

La región de las Américas no queda excluida, pues se notificaron 3 139 335 casos de Dengue y unas 1538 defunciones por esta patología. Por criterios de laboratorio fueron confirmados el 43% y el 0,9% como Dengue grave³.

Muy lejos de ser un problema de salud rural, la OMS alerta al mundo que la mayor frecuencia de brotes epidémicos se manifiesta en las zonas urbanas y suburbanas de los climas

tropicales y subtropicales⁴. Se dice que la mitad de la población mundial habita en estos lugares y la otra mitad está expuesta, debido a que las empresas e instituciones de turismo reportan algo más de mil millones de viajeros y turistas que frecuentan estas zonas de clima privilegiado¹. La incidencia del dengue ha aumentado unas treinta veces producto de la expansión geográfica⁴.

Ecuador no ha sido la excepción de la epidemia, sus fuertes golpes de temporada lo llevan a mantener un estado de alerta todo el tiempo. En 1985 enfrentó el resurgimiento de la enfermedad a modo de epidemia y desde entonces se mantiene la enfermedad en alza, razón suficiente para que se haya declarado al Dengue como un problema de salud prioritario⁵.

Esta reaparición del Dengue fue con el serotipo DEN1, seguida del genotipo americano DEN2 en 1990, posteriormente en 1993 se produjo la introducción del DEN4 y desde entonces hasta 1999 estuvieron circulando y propagándose en el país los tres serotipos, hasta que en el año 2000 se dio la introducción simultánea del DEN3 genotipo III y el genotipo asiático del DEN2⁶.

Esta infección viral constituye un problema de salud pública mayor en Ecuador, ya que debido a la fácil y rápida reproducción del vector del género *Aedes*, se ha convertido en una enfermedad común en las zonas tropicales como son costa y oriente. Los altos niveles de incidencia del mosquito y la circulación de los cuatro serotipos han provocado un aumento de la morbimortalidad en el país.

La endemia de la fiebre por Dengue, así como el incremento en el número de casos en Ecuador durante los últimos años, ha generado gran preocupación en todos los sectores que tienen relación con el área de la salud. Los esfuerzos para interrumpir la transmisión se han concentrado en el control vectorial; por lo que resulta importante tener el conocimiento del comportamiento de esta enfermedad.

Al existir esta problemática a nivel nacional y una de las provincias de la zona tropical ecuatoriana es Santo Domingo de los Tsáchilas, donde no existen antecedentes de publicaciones del tema según la bibliografía consultada, nos motivó a investigar el comportamiento de esta infección viral, en cuanto a cantón más afectado, los signos de

alarma que se presentan con frecuencia, los serotipos que más circulan en la provincia y los grupos etarios que más enferman.

Para dar solución a esta problemática, se analizó la base de datos epidemiológica, proporcionada por el Distrito de Salud Pública 23D01 y junto con una revisión bibliográfica se pudo conocer el comportamiento de dicha enfermedad. Esta información será útil a las autoridades pertinentes y población involucrada, para disminuir al máximo esta infección viral, causante de gran morbimortalidad, con medidas preventivas y educando a la población a la erradicación del vector transmisor, se estaría dando cumplimiento al Objetivo 1 del Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021: “Garantizar una vida digna con iguales oportunidades para todas las personas”⁷.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar el comportamiento del Dengue en la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas, entre los años 2017 y 2018.

Objetivos específicos:

- Identificar el cantón con mayor contagio del Dengue en la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas.
- Especificar el comportamiento de la enfermedad por semana epidemiológica y su clasificación en dengue sin signos de alarma (DSSA), con signos de alarma (DCSA) y dengue grave (DG).
- Conocer los grupos etarios de DSSA, DCSA y DG más afectados durante el 2017 y 2018.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

Historia de la enfermedad

El nombre de esta patología tiene su origen de la frase “Ka-dinga pepo” perteneciente a la lengua swahili, que da a entender que es una enfermedad provocada por un fantasma, en castellano se traduce “dengue”, que intenta describir los molestos síntomas de la persona infectada debido a las artralgias⁸.

La primera vez que se tiene un registro de un caso de Dengue es en una anotación medicinal china en la dinastía Jin (265-420)⁸. En el continente asiático específicamente los chinos asociaron los insectos voladores con el agua dándole el nombre de “veneno acuático” y en 1978 Benjamín Rush menciona la enfermedad como “fiebre rompehuesos”⁹.

La Organización Panamericana de la Salud en su sitio web nos muestra una relación histórica del Dengue en las Américas. En Martinica y Guadalupe, en el año 1635, la enfermedad podría haber hecho su primera aparición¹⁰. En 1781 casi simultáneamente se produjeron las primeras epidemias en Asia, África y América del Norte^{8,9,11}. El Dengue obtuvo su nombre e identificación en 1779⁹. Se estima que el virus es originario de África y fue expandido al mundo mediante el comercio de esclavos⁹.

En los años sesenta tuvieron lugar dos pandemias en Venezuela y el Caribe, en ellas se logró aislar los serotipos 2 y 3 de Dengue. Cuando el serotipo 1 de Dengue realizó su aparición en América se produjo una pandemia en los años 1977 hasta 1980, inicialmente fue detectada en Jamaica, posiblemente migró desde África, para después dirigirse a América del Sur específicamente en países como Colombia y Venezuela, por último, se esparció a varios países de Centroamérica hasta México, dando como resultado un contagio de al menos 5 millones de seres humanos¹¹.

Después de varios años libre de Dengue, el Ecuador presentó en 1985 el inicio de la infección viral en Guayaquil, en 1987 estaba regado ampliamente en casi todo el Litoral Ecuatoriano

y ya en 1988 se presentaba una gran epidemia de Dengue Clásico por la presencia del vector trasmisor de la enfermedad⁶.

En 1954 el Dengue Hemorrágico mediante su aparición causó una enorme preocupación a nivel mundial, primero se hizo presente en Filipinas y luego se propagó de manera rápida a Tailandia, Vietnam, Indonesia y a otros países asiáticos y del Pacífico, estableciéndose como endémico y epidémico en ciertos países. Al comparar los casos hemorrágicos existentes en África con los nuevos contagios en América eran muy similares, sin embargo, los grupos etarios presentaban diferencias³.

El virus del Dengue ha sido considerado una enfermedad con prioridad de presentarse en la zona urbana, no obstante, en la zona rural ha ganado su espacio encontrando con mayor frecuencia casos de dengue en su población⁵.

Definición

La OMS nos da la definición: “El dengue es una infección vírica transmitida por la picadura de las hembras infectadas de mosquitos del género *Aedes*”¹². Es causada por un arbovirus perteneciente a la familia *Flaviviridae*, existen a la actualidad cuatro serotipos de virus del dengue (DEN 1, DEN 2, DEN 3 y DEN 4)⁸.

El dengue se presenta en los climas tropicales y subtropicales del mundo, con mayor frecuencia en las zonas urbanas y semiurbanas. La sintomatología aparece de 3 a 14 días después de la picadura infectiva y es una enfermedad similar a la gripe^{8, 12}.

La transmisión de este virus es realizada por un ciclo que involucra tanto al mosquito como al hombre. El período de incubación en el primero es hasta 15 días, multiplicándose en él y queda infectado de por vida este vector, mientras que en el humano el período de incubación es de 4 a 10 días; las personas infectadas pueden (entre 4-5 días como máximo 12) transmitir al mosquito *Aedes* la infección¹³.

Los 4 serotipos del Dengue son endémicos y en la mayor parte se encuentran en países tropicales. Los picos epidemiológicos ocurren mayormente en el verano luego de las lluvias

de primavera lo cual permite al *Aedes aegypti* multiplicarse hasta llegar a índices de infestación y de esta manera se favorece la transmisión a la población¹⁴.

Esta es una enfermedad viral que se lleva la corona en ser de las más rápidas en propagarse en el mundo transmitida por un mosquito. En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con la creciente expansión geográfica hacia nuevos países y, en la actual década, de áreas urbanas a rurales¹⁵.

Éste se considera como ejemplo de una enfermedad que es capaz de representar una emergencia de salud pública, provocando interés internacional y para la seguridad sanitaria, por ello la atención a la necesidad de interrumpir la infección y su rápida propagación más allá de las fronteras¹⁶.

En la región de Las Américas existen cuatro serotipos circulando; durante el 2018 se notificaron en total regional 560.586 casos, con incidencia de 57,3 pacientes por cada 100.000 habitantes; de los cuales 3.535 (0,63%) fueron clasificados como dengue grave¹⁷.

El dengue, una afección propia de países tropicales y subtropicales, también conocido como fiebre de los siete días, fiebre rompe huesos, fiebre de Dandy, la piadosa, fiebre de aclimatación, calentura roja, fiebre datilera, fiebre de Don Simón, pantomima o trancazo, en España, fiebre quebrantahuesos en Filadelfia y aburabakú en Arabia. Es producido por un virus que pertenece al grupo de los arbovirus transmitidos por artrópodos hematófagos, a la familia *Flaviviridae* y al género *Flavivirus* de la especie del dengue⁸.

Vectores

Aedes aegypti y *Aedes albopictus*, son los dos vectores comprobados que realizan la transmisión del virus el dengue, el primero es al que se le asigna la transmisión en América y el segundo es el principal responsable del contagio en Asia¹⁵.

Aedes aegypti

Es una especie del subgénero *Stegomyia*, se originó en África, y se expandió a América durante la colonización europea. Su ubicación es en todas las zonas tropicales del mundo y

también en las subtropicales las cuales se encuentran entre las latitudes 35° norte y 32° sur, por lo general vive en las zonas que están por debajo de los 1000 metros, o en zonas de 2000 metros que su temperatura no descienda los 10°C¹⁵.

En América se considera a este vector como una especie doméstica ya que se encuentran a no más de 100 metros de las viviendas de los humanos, es común que infeste lugares donde se encuentre agua estancada sean naturales o artificiales. Los huevos se colocan por encima del nivel de agua, donde se encuentra la parte húmeda, pueden eclosionar en alrededor de 48 horas y permanecer hasta un año en periodos de sequedad para eclosionar cuando reciban algo de humedad nuevamente. La hembra se alimenta de sangre de preferencia humana¹⁵.

Aedes albopictus

Es una especie del subgénero *Stegomyia*, también identificado como el tigre asiático, se encuentra por Asia y Pacífico, y se ha encontrado también en América, trópicos y subtrópicos. Este prefiere vivir en los límites de los bosques, es posible encontrarlo en zonas urbanas, pero en mucho menor cantidad que *Aedes aegypti*. Pone sus huevos en trocos de árboles y hojas. Los huevos se pueden adaptar al invierno y resisten bajas temperaturas¹⁵.

Prefiere picar a animales que a seres humanos. Si *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* se aparean da como resultado huevos infértiles, y se conoce que las dos especies compiten por territorio. En América no se ha determinado la importancia del segundo en la transmisión del dengue¹⁵.

Etiología

Enfermedad viral febril aguda, transmitida al humano por la picadura del mosquito *Aedes aegypti*, puede ser causada por uno de los 4 serotipos del virus DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4⁶. Estos serotipos en su mayoría comparten analogías estructurales y patogénicas, cualquiera de ellos puede causar la forma grave, pero en su mayoría los serotipos 2 y 3 son los asociados a la mayor cantidad de fallecidos y casos graves según las literaturas revisadas¹⁸⁻²⁰.

La partícula viral del dengue mide entre 30 y 50 nm y es de forma esférica. Su envoltura está formada por proteínas (proteína E como principal y proteína M). El material genético está protegido por la nucleocápside de simetría icosaédrica⁸. Entre ellas se encuentra una bicapa lipídica, sus lípidos se derivan de la membrana celular del hospedero. El genoma tiene sólo una molécula de ácido ribonucleico (ARN) de cadena sencilla lineal, positiva y de alta variabilidad genómica²¹.

El virus del dengue no es estable en el ambiente, se desactiva fácilmente por temperaturas altas, desecación y desinfectantes que contengan detergentes o solventes lipídicos. Cada serotipo del dengue crea inmunidad específica para toda la vida contra la reinfección del mismo serotipo y una inmunidad cruzada de varios meses para los tres serotipos restantes⁸.

La infección asintomática, enfermedad febril o cuadros severos pueden ser causados por los 4 serotipos, aunque cada serotipo tiene variantes genéticas que pueden ser más virulentas que otras²².

Epidemiología

Al ser una enfermedad tropical casi la mitad de la población al nivel mundial esta propensa a padecer esta infección al habitar en estas áreas tropicales y subtropicales, incluyendo 400 millones de viajeros de Europa y Norteamérica, debido a las visitas que realizan a países tropicales y subtropicales como turistas^{12, 23}.

En los últimos años la prevalencia del dengue se ha incrementado a grandes pasos. Las cifras van desde 50 millones de contagios al año, 500.000 hospitalizaciones hasta 25.000 muertes. Son 100 países los que han reportado casos de Dengue y/o Dengue Hemorrágico, por tal motivo la OMS considera que este es uno de los principales problemas de salud para la humanidad, por la alta afectación tanto económica como social que acarrea^{16, 24, 25}.

Cuando el huésped se encuentra en el periodo de 5 a 7 días (estado de viremia), es reservorio de la enfermedad. Los cuatro serotipos del dengue son transmitidos por el género *Aedes*, siendo el *Aedes Aegypti* el más conocido e importante, por lo cual al picar a una persona que está en la etapa de viremia, éste se infecta y trasmite la enfermedad^{24, 26}.

Mediante las investigaciones realizadas en el pasar de los años se plantea que las epidemias se dan en cualquier lugar que se encuentren los vectores transmisores y el virus sea introducido, esto se puede dar tanto en zonas urbanas como en rurales. Los brotes se dan en su mayoría en verano, cuando la condición ambiental es ideal para la proliferación del mosquito¹⁴.

Situación epidemiológica del Dengue en el Ecuador

En Ecuador el Dengue representa un problema prioritario en salud pública gracias al gran número de casos que se presentan año a año. Desde el resurgimiento de éste a finales de 1988 se han registrado varias epidemias, las zonas tropicales y subtropicales del país están en constante riesgo de transmisión. En el país se presentan los cuatro serotipos del virus del dengue: DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4. El impacto de la enfermedad se basa en la densidad y distribución poblacional de los vectores *Aedes aegypty* y *A. albopictus*; así como del serotipo viral circulante¹⁷.

Durante el último quinquenio se ha mantenido la epidemia de dengue en ascenso, correspondiendo con dengue sin signos de alarma (DSSA), con signo de alarma (DCSA) y dengue grave (DG) en diferentes provincias del país, tales como Manabí, Guayas, El Oro, Santo Domingo de los Tsáchilas, Los Ríos, Esmeralda, Morona Santiago, Napo y Orellana, llegando a sobrepasar los 15 000 casos^{27, 28}.

Clasificación

En el año 2009 la Organización Mundial de la Salud planteó la clasificación recomendada para el Dengue, siendo mucho más sencilla y fácil a la comprensión de la población, esta clasificación se dio gracias a los resultados del Dengue control (DENCO), la cual incluyó casi 2.000 casos confirmados de ocho países y estableció las formas de enfermedad Dengue y Dengue grave²⁹.

En el diagrama de clasificación revisada del Dengue (Anexo1) encontramos la clasificación del dengue de la siguiente manera²⁹.

Dengue sin signos de alarma (DSSA): La enfermedad puede manifestarse como un "síndrome febril inespecífico".

Dengue con signos de alarma (DCSA): Puede presentar: dolor abdominal intenso y continuo, vómito persistente, acumulación de líquidos, sangrado de mucosas, alteración del estado de conciencia, hepatomegalia y aumento progresivo del hematocrito.

Dengue grave (DG): Las formas graves de dengue se definen por uno o más de los siguientes: choque por extravasación del plasma, acumulación de líquido con dificultad respiratoria, o ambas; sangrado profuso que sea considerado clínicamente importante por los médicos tratantes, o compromiso grave de órganos. Hígado: AST o ALT > o igual a 1000; SNC: alteración de la conciencia, y que incluye el corazón y otros órganos²⁹.

Formas clínicas

La infección por este virus presenta diferentes síntomas. Algunas veces es asintomática; de manera más común produce un cuadro de fiebre conocido como fiebre Dengue o puede manifestar un cuadro febril severo al cual se denomina fiebre hemorrágica por Dengue la cual puede llegar a un síndrome de shock³⁰.

Después de la picadura entre el día 4 al 7 los síntomas aparecen y permanecen por 3 a 10 días. De manera principal, para la fiebre por Dengue los síntomas son: fiebre alta, cefalea intensa, dolor retroorbitario, articular, en los músculos y los huesos, además de erupciones y sangrado leve por la nariz y encías y fácilmente se presentan hematomas. Es usual que los niños pequeños y las personas que se infectan por primera vez con el virus suelen tener síntomas más leves que los adultos y los que son reinfectados respectivamente³⁰.

Fiebre indiferenciada.

Consiste en un cuadro de fiebre moderada, el cual dura de 1 a 3 días, es frecuente en niños, y por lo general se acompaña de síntomas no específicos de vías respiratorias altas²³.

Dengue clásico.

Es frecuente en adolescentes y adultos. Tiene un periodo de incubación que va de 3 a 8 días. La sintomatología inicia con fiebre, cefalea, malestar general, artralgias, mialgias, dolor retro

orbital, molestias gastrointestinales. Entre el tercer día y quinto día se puede presentar hemorragias en la piel y puede dar una prueba del torniquete positiva. En exámenes de laboratorio puede ser general encontrarse linfocitosis relativa, leucopenia y trombocitopenia moderada. La sintomatología dura entre 4 y 10 días. La tasa de mortalidad es muy baja²⁵.

Dengue Hemorrágico.

El dengue hemorrágico va acompañado de anormalidades de la hemostasis, es un síndrome agudo de extravasación sanguínea. Se puede presentar en niños o adultos, siendo estos últimos los que tienen mayor predisposición, presentándose cuando el organismo se pone en contacto por segunda vez con otro serotipo del virus Dengue²⁰.

Etapas de la enfermedad

Etapa febril

Su duración puede variar entre 4 a 7 días; periodo de viremia, en el cual existe una elevada probabilidad de transmisión si la persona contagiada es picada por un mosquito vector. Los exámenes de laboratorio complementarios que acompañan esta etapa son hemograma o biometría hemática en el cual por lo general observamos una leucopenia con linfocitosis relativa y trombocitopenia³¹.

Un hepatograma en el que puede presentar transaminasas elevadas. Proteína C reactiva (PCR) en valores bajos o no elevados, un valor elevado nos puede indicar un diagnóstico de infección bacteriana. Los demás exámenes van a depender de la presentación clínica³¹. Signos de alarma: vómitos recurrentes, dolor abdominal constante e intenso, derrame seroso, hipotensión, sangrado de mucosas, somnolencia, hepatomegalia, disminución del recuento de plaquetas con aumento brusco del hematocrito³¹.

Etapa crítica

El shock hipovolémico se presenta en el paciente cuando existe una extravasación de plasma, este estado debe ser prevenido, pues es grave y en ocasiones irreversible. Pueden existir además complicaciones graves como neumonitis, distress respiratorio, afectación cardiaca grave, hepatitis, encefalitis y la insuficiencia renal aguda, siendo la encargada de empeorar

el pronóstico. Es la etapa con alta mortalidad sin un diagnóstico temprano y un óptimo tratamiento³¹.

Dentro de los exámenes de laboratorio se encuentran hemograma o biometría hemática la cual es fundamental ya que debido a la extravasación del plasma el hematocrito aumenta, pero no se debe esperar para determinar la gravedad del paciente, la plaquetopenia acentúa su presencia en esta etapa y se debe tener en cuenta el lactato en sangre debido a que su aumento es un signo precoz de hipoperfusión tisular³¹.

Etapa de recuperación

Puede ser rápida y en ella se evidencia la mejoría del paciente, como complicación se puede tener cuidado de una infección bacteriana agregada o un estado de sobrecarga de volumen, un exantema entre el sexto y noveno día y puede llegar hasta el día 15 asociado a un prurito intenso. El hemograma se utiliza en esta etapa para mejor control en la recuperación³¹.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico definitivo se realiza en el laboratorio y depende totalmente de la detección de anticuerpos específicos en el suero sanguíneo del paciente, así como también del antígeno viral o del RNA viral ya sea en el suero, tejido o aislamiento²⁹.

Entre los métodos diagnósticos se encuentran el diagnóstico serológico, aislamiento viral, identificación viral, RT-PCR (Reacción de cadena de polimerasa-transcriptasa reversa), Inmunohistoquímica, pruebas rápidas y pruebas complementarias²⁹.

Los anticuerpos neutralizantes específicos y los anticuerpos IgM del virus del dengue se desarrollan generalmente al día 4 o 5 de la enfermedad. Los niveles de IgM no son exactos, pero por lo general son positivos dentro del cuarto a quinto día después del comienzo de la sintomatología y continúan como positivos hasta 3 meses después del comienzo de la exposición, aunque en algunas ocasiones pueden durar más días³².

Las dos maneras de diagnosticar de forma definitiva esta enfermedad son mediante la detección del virus del dengue o mediante la detección de anticuerpos anti-dengue. En el cultivo del virus RNA de dengue se puede usar sangre, plasma, líquido cefalorraquídeo o

líquido pleural; se inocula los mosquitos de laboratorio y se detecta por inmunofluorescencia del tejido del mosquito²⁹.

El cultivo es más específico y sensible en comparación con las pruebas serológicas, pero entre sus limitaciones se hace presente que la muestra debe ser tomada en el primer y segundo día desde que comenzó la fiebre y también que no todos los laboratorios cuentan con los implementos y la capacidad de realizarlo ²⁹.

El otro método de diagnóstico consiste en métodos serológicos, en estos existe la opción de emplear la inhibición de la hemaglutinación, en la fijación del complemento y la captación de anticuerpos IgM por ELISA, siendo este último el más utilizado debido a su sencillez y rapidez. El beneficio de realizar este tipo de exámenes a diferencia del cultivo de virus RNA de dengue es que se puede detectar desde el quinto hasta los 30 a 60 días después y las inmunoglobulinas no son desactivadas por temperaturas cálidas; como desventaja tenemos que no permite hacer una detención de la enfermedad durante los 5 primeros días, además de poder existir falsos positivos por reacción cruzada con otros flavivirus²⁹.

Ensayo de inmunoabsorción enzimática para la detección de anticuerpos IgM (MAC-ELISA)

La prueba MAC-ELISA para dengue se usa para la detección cualitativa de anticuerpos (Ac) IgM contra el virus del dengue. La prueba MAC-ELISA tiene su base en la captación de anticuerpos IgM humanos en un pocillo usando anticuerpos contra la IgM, luego se añade antígeno específico del virus del dengue (DENV1-4). En este ensayo los antígenos se derivan de la proteína que se encuentra en la envoltura del virus³².

Como muestra biológica se puede trabajar con suero sanguíneo del paciente o con líquido cefalorraquídeo, debemos tener presente que mientras el sistema inmune va combatiendo la infección, los Ac-IgM contra el virus del Dengue aumentan conforme pasan los días de la enfermedad, estos anticuerpos se pueden detectar de 4 a 5 días luego del comienzo de la sintomatología hasta aproximadamente 3 meses después; cabe señalar que la detección de anticuerpos IgM no determina el serotipo de dengue³².

Muchas veces los resultados pueden ser alterados con otros flavivirus o una posible reactividad no específica, causando dificultades en cuanto al diagnóstico. En consecuencia, las pruebas con presuntos resultados positivos, resultados dudosos o resultados no concluyentes podrían tener confirmación por pruebas de neutralización por reducción de placas (PRNT) ³².

La PRNT detecta Ac neutralizantes específicos, se usa para determinar con precisión la causa de infección en pacientes con resultados positivos de Ac IgM, mide cuantitativamente los valores de concentración de los anticuerpos neutralizantes en el suero de una persona infectada, ensayo biológico basado en el principio de interacción de los virus y los anticuerpos, este ensayo fue creado para usar menos reactivos y mayor cantidad de muestras. Pese a su elevado costo y demanda de tiempo al momento de ser elaborada una sola prueba PRNT, puede ayudar a determinar el momento de la infección³².

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

Se realizó una investigación de tipo descriptiva, documental y no experimental, de corte transversal y retrospectiva, a partir de la información que fue tomada de la base de datos epidemiológica del Distrito de Salud Pública 23D01, con el propósito de determinar el comportamiento del dengue en la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas entre los años 2017-2018.

Población

La población estuvo conformada por el número de casos incluidos en el registro epidemiológico que conforma la base de datos de la Gaceta Epidemiológica del Distrito de Salud Pública 23D01, que sustenta la información sobre enfermedades vectoriales reportadas al Ministerio de Salud Pública del Ecuador entre los años 2017 y 2018.

Muestra

La muestra de estudio estuvo conformada por los casos diagnosticados en las diferentes variantes de Dengue en el contexto y período investigado.

Técnicas y procedimientos

Técnica: observación

Procedimiento

Se revisó la base de datos del Ministerio de Salud Pública proporcionada por el Distrito de Salud Pública 23D01, para la recolección y tratamiento de la información descriptivamente, (Anexo 2).

Procedimientos para el diagnóstico de Dengue en los diferentes laboratorios de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas

A. En laboratorios del área pública, se realiza el diagnóstico para esta enfermedad viral mediante técnicas de microelisa:

➤ **Panbio Dengue Early ELISA** (ensayo ELISA para la detección precoz del Dengue de Panbio):

Es un ensayo ELISA para la captura del antígeno (Ag) NS1 del dengue. Se utiliza para la detección cualitativa del antígeno NS1 en suero como ayuda para el diagnóstico en laboratorios clínicos indicativos de fiebre del dengue.

Cuando está presente el Ag sérico NS1 del dengue se une a los Ac anti-NS1 ligados a la superficie de poliestireno de los microposillos. El suero restante se elimina mediante lavado y se agrega anticuerpo monoclonal (MAb) anti-NS1 conjugado con peroxidasa de rábano (HRP).

Después del periodo de incubación, los microposillos se lavan y se agrega un sistema de sustrato incoloro de tetrametilbencidina y peróxido de hidrogeno (cromógeno de TMB). La enzima hidroliza el sustrato y la TMB se vuelve de color azul. Luego de detener la reacción con ácido, la TMB se vuelve de color amarillo. Los cambios de color indican la presencia del Ag NS1 del dengue en la muestra de la prueba, (Anexo 3).

➤ **Panbio Dengue IgM ELISA** (ensayo ELISA de captura de IgM contra el Dengue de Panbio):

Es una detección cualitativa de Ac IgM contra el Ag del dengue en suero, como ayuda para el diagnóstico en laboratorios clínicos de pacientes con síntomas clínicos indicativos de fiebre del dengue.

Cuando los anticuerpos de la clase IgG están presentes en suero se unen a los Ac anti-IgM humana ligados a la superficie de poliestireno de las tiras de prueba de los microposillos. Se diluye un grupo concentrado de antígenos 1 a 4 del Dengue en el volumen de trabajo adecuado con diluyente para antígeno.

Los Ag se producen usando un sistema de expresión en células de insecto y se inmunopurifican mediante un anticuerpo monoclonal específico. Se agrega un volumen igual de anticuerpo monoclonal (MAb) conjugado con HRP al antígeno diluido, lo que permite la formación de complejos de antígeno-MAb.

La placa de la prueba se lava para retirar el suero residual y se agregan complejos de antígeno-MAb a la placa. Después del periodo de incubación, los microposillos se lavan y se añade un sistema de sustrato incoloro de tetrametilbencidina y peróxido de hidrogeno (cromógeno de TMB). La enzima hidroliza el sustrato y el cromógeno se vuelve de color azul. Después de detener la reacción con ácido, la TMB se vuelve de color amarillo.

Los cambios de color indican la presencia de anticuerpos de IgM contra el dengue en la muestra de la prueba (Anexo 4).

B. En laboratorios del área privada, se realiza el diagnóstico para esta enfermedad viral mediante el uso de pruebas rápidas:

➤ **Prueba rápida de Dengue en cassette (Sangre Total/Suero/Plasma):**

Este es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos IgG E IgM del virus del Dengue en sangre total, suero o plasma humano.

Su principio se basa en que la prueba rápida de Dengue en cassette es un inmunoensayo a base de membrana para la detección cualitativa de Ac de Dengue en sangre total, suero o plasma. Esta prueba consiste en dos componentes, un componente IgG y un componente IgM.

En el componente IgG, la zona de la región 1 del examen es cubierta por IgG anti-humano. Durante el examen la muestra reacciona con las partículas cubiertas por el antígeno en las tiras de examen de Dengue. La mixtura migra hacia arriba de la membrana cromatográficamente por acción capilar y reacciona con el IgG anti-humano en la región 1 del examen.

Si la muestra contiene anticuerpos IgG de Dengue, una línea de color aparecerá en la zona del examen de la región 1. En el componente IgM, se cubre la zona de la región 2 del examen con anti-ligand.

Durante el examen las muestras reaccionan con el ligand IgM anti-humano. Los Ac del Dengue, si se encuentran presentes en las muestras, reaccionan con el ligand IgM anti-Humano y las partículas cubiertas de Dengue en la tira del examen, y este complejo es capturado por el anti-ligand, formando una línea de color en la zona de la región 2.

Por lo tanto:

- a) Si la muestra contiene anticuerpos IgG de Dengue, una línea de color aparecerá en la zona de la región 1.
- b) Si la muestra contiene anticuerpos IgM de dengue, una línea de color aparecerá en la zona de la región 2.
- c) Si la muestra no contiene anticuerpos de Dengue, ninguna línea de color aparecerá en las regiones, indicando un resultado negativo.

Como un control de procedimiento, una línea de color siempre cambiara de rojo a azul en la región de control, indicando que un volumen apropiado de muestra se ha añadido y que la reacción de la membrana se ha producido, (Anexo 5).

➤ **SD Dengue Duo, Dengue NS1 + Ab Combo (11fk45, 11fk46):**

Detección simultánea de la prueba Dengue NS1 Ag e IgG IgM Ab. La prueba de detección rápida SD BIOLINE Dengue Duo contiene dos inmunoensayos cromatográficos *in vitro* para el análisis de infección por dengue en suero, plasma o sangre completa de humanos.

La prueba de detección rápida Dengue NS1 antigen es un ensayo de un solo paso de alta sensibilidad y especificidad para la detección cualitativa del antígeno NS1 del virus del Dengue. Cuando se añade al pocillo para muestras, del antígeno NS1 presente en la muestra reacciona con los conjugados de oro coloidal-anticuerpos monoclonales murinos contra el dengue, formando un complejo de anticuerpos y de antígeno.

A medida que este complejo se desplaza a lo largo del dispositivo de prueba por cromatografía, es capturado por Ac inmovilizados que producen una línea de prueba de color adyacente a “T” (línea de prueba de antígeno NS1). Se utiliza una segunda línea para el control del procedimiento y siempre debe aparecer adyacente a “C” (línea de control) si el

procedimiento de prueba se realiza correctamente y los principios activos de los principales componentes de la tira funcionan.

Cuando el antígeno NS1 del virus del Dengue está presente en la muestra:

- a) las líneas de control (“C”) y de prueba (“T”) aparecen en la ventana de resultados, lo que indica un resultado positivo.
- b) Solo aparece la línea de control (“C”) para las muestras que no contienen Dengue IgG/IgM (“G”/”M”) o que contiene estos anticuerpos por debajo del límite de detección del ensayo, lo que indica un resultado negativo, (Anexo 6).

Procesamiento estadístico

Se realizó mediante la aplicación de hojas de cálculo pertenecientes al sistema operativo Microsoft Office 2013, empleando la estadística descriptiva.

Consideraciones éticas

No existieron conflictos bioéticos porque la muestra no fue de origen biológico, sino de una base de datos epidemiológica, por lo que se respetaron las normas éticas de la investigación científica.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los mosquitos del género *Aedes* son capaces de transmitir diferentes enfermedades víricas y una de ellas es el dengue, patología que cursa desde formas leves hasta graves y la muerte. Motivo por el cual debemos conocer su comportamiento para prevenir dicha infección; conociendo así la ocurrencia de dengue por años de estudio y cantones en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas (Tabla 1).

Tabla 1. Casos de dengue por cantón en la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas en los años 2017 y 2018.

Cantón	N° de pacientes con Dengue por año				Total de pacientes con Dengue durante el periodo estudiado	
	2017	%	2018	%	2017-2018	%
Santo Domingo	444	37	119	77	563	42
La Concordia	758	63	35	23	793	58
TOTAL	1202	100	154	100	1356	100

Fuente: Gaceta epidemiológica emitida por el MSP. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, enfermedades transmitidas por vectores DENGUE, SE01 hasta SE52/2017/2018. Proporcionada por el Distrito de Salud Pública 23D01.

En el análisis de los datos de la Tabla 1, obtenidos de la Gaceta Epidemiológica emitida por la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública (MSP) de los años 2017 y 2018, se puede observar que el cantón La Concordia fue el que presentó más casos de dengue (58%) entre los dos períodos, a pesar que en el 2018, en el cantón Santo Domingo se diagnosticaron muchos más casos, siendo un 77% contra un 23% en la otra población.

Durante el año 2018 se evidencia una reducción notable de casos en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. En la bibliografía consultada no hay alusión al motivo de esta

disminución, pero concuerda con un descenso de casos de dengue a nivel nacional según la gaceta epidemiológica emitida por el MSP, en el acápite Enfermedades Transmitidas por Vectores²⁶.

Tabla 2 Comportamiento del dengue por semana epidemiológica en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas durante el 2017 y 2018.

Períodos analizados				
Semana epidemiológica	2017	%	2018	%
1-5	41	3.4	22	14.3
6-10	115	9.6	11	7.1
11-15	163	13.6	17	11
16-20	281	23.4	10	6.5
21-25	305	25.3	11	7.2
26-30	139	11.6	13	8.4
31-35	58	4.8	23	15
36-40	55	4.6	16	10.4
41-45	26	2.1	13	8.4
46-50	19	1.6	10	6.5
51-52	0	0	8	5.2
TOTAL	1.202	100	154	100

Fuente: Gaceta epidemiológica emitida por el MSP. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, enfermedades transmitidas por vectores DENGUE, SE01 hasta 52 / 2017/2018. Proporcionada por el Distrito de Salud Pública 23D01.

El comportamiento del dengue por semana epidemiológica evidenciado en la Tabla 2, mostró un aumento de casos entre las semanas del 16-20 y del 21-25 con 23,3% y 25,3% respectivamente en el año 2017, correspondiendo estas semanas con los períodos de lluvias más intensos en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas³³, mientras que en la semana 52 existió 0% de casos.

Sin embargo, para el 2018 existió el mismo clima³⁴ y durante todo el año existieron pocos casos diagnosticados con relación al anterior, esto puede deberse a subregistros debido a que no se reportaran todos los casos o a que las personas enfermas no acudieran a centros de salud, por temor a ser hospitalizados, no tener recursos económicos o por desconocimiento; pudiendo pasar la viremia sin complicaciones ni tratamientos.

Se conoce que en épocas de lluvias hay un incremento del dengue debido a que el mosquito trasmisor de la enfermedad se reproduce con facilidad en cualquier cantidad de agua estancada, sea limpia o residual, donde ponen sus huevos y estos demoran unos 7-10 días en transformarse en mosquitos adultos; teniendo un promedio de vida de 3 meses y una vez que son infectados son capaces de transmitir el virus dengue de por vida.

Según los registros estadísticos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS), para las Américas³⁵, en Colombia durante el año 2018 existió un incremento de los casos dengue a partir de la semana 22 con un total de 44 825 anual, al igual que en Venezuela (19 118 casos) con cifras muy por encima de las notificadas en Ecuador (3072 pacientes). Mientras que en el 2017 fue a la inversa, registrándose en Ecuador cifras superiores a las encontradas en estos dos países anteriores; presentándose así mismo para la provincia de Santo Domingo de los Táchilas^{27, 28}.

En la Gaceta Epidemiológica del 2017 y 2018 del Ecuador, se manifiesta que existen otras provincias con mayor diagnóstico de esta infección viral que Santo Domingo, como son Manabí y el Guayas, con predominio de casos entre las semanas 4 y 22. Sin embargo para la provincia en estudio predominaron los casos en el 2017 desde la SE6 a la SE30 y durante el 2018 desde SE1 a SE45, para luego declinar^{27, 28}. En esta provincia los índices más altos se encuentran en la época de mayor humedad y mayor temperatura, siendo el momento ideal del mosquito para reproducirse.

La picadura del *Aedes aegypti* es imperceptible y generalmente al oscurecer es que pica más, porque requiere de sangre para madurar su huevo y ponerlo en lugares con agua o húmedos³⁶, teniendo en cuenta esta característica del vector en las zonas donde existe endemia se deben tomar medidas para evitar las picaduras como por ejemplo mallas en puertas y ventanas, uso soluciones repelentes y mosquiteros.

El dengue ha sido clasificado según la OMS en dengue sin signos de alarma (DSSA), con signos de alarma (DCSA) y dengue grave (DG)²⁹. Las manifestaciones clínicas de esta virosis se observan en la Tabla 3, de acuerdo a su distribución entre los años estudiados en la investigación.

Tabla 3. Clasificación del dengue en DSSA, DCSA y DG en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas durante el período comprendido entre 2017 y 2018.

Años en estudio	DSSA		DCSA		DG	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2017	1.198	99,66	4	0,33	0	0
2018	143	92,85	10	6,49	1	0,62
TOTAL	1.341	98,89	14	1,03	1	0,07

Fuente: Gaceta epidemiológica emitida por el MSP. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, enfermedades transmitidas por vectores DENGUE, SE01 hasta 52 / 2017/2018. Proporcionada por el Distrito de Salud Pública 23D01.

En el período analizado entre los años 2017 y 2018, el dengue sin signos de alarma fue el más notificado con un 98,89%, seguido del dengue con signos de alarma y grave con 1,03% y 0,07% respectivamente.

El DSSA es la forma más frecuente de presentación que puede pasar inadvertida como un resfriado común en muchas personas, lo cual hace pensar que ésta sea una de las posibles causas en que en el 2018 existió baja notificación de casos de dengue en Santo Domingo de los Tsáchilas.

A diferencia de Santo Domingo de los Tsáchilas que en el 2017 (0%) y en el 2018 (0,62%) presentó muy bajo porcentaje de dengue grave, en El Salvador fue lo contrario con un 11,1% durante el año 2017 y para el 2018 un 67,8%. Sin embargo, en cuanto a dengue con o sin signos de alarma el comportamiento es similar^{37,38}.

En la Tabla 4 se puede observar los grupos etarios más afectados según las diferentes formas de presentación del dengue como son dengue sin signos de alarma (DSSA), con signos de alarma (DCSA) y dengue grave (DG).

Tabla 4. Distribución de casos de DSSA, DCSA y DG, según grupos etarios en el Ecuador durante los años 2017 y 2018.

Fuente: Gaceta epidemiológica emitida por el MSP. Dirección Nacional de Vigilancia

Grupos etarios	Año 2017						Año 2018					
	DSSA		DCSA		DG		DSSA		DCSA		DG	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 11 meses	229	2,1	5	2,3	1	5,6	108	3,7	2	1,7	0	0
1-4 años	701	6,3	22	10,4	2	11,1	226	7,7	12	10,3	0	0
5-9 años	1.065	9,6	22	10,4	1	5,6	293	9,9	14	12,1	1	16,7
10-14 años	1.182	10,6	21	9,9	0	0	286	9,7	12	10,3	1	16,7
15-19 años	1.164	10,4	25	11,8	3	16,7	297	10,1	11	9,5	2	33,3
20-49 años	5.225	46,8	86	40,6	6	33,3	1.380	46,8	53	45,7	2	33,3
50-64 años	1.107	9,9	25	11,8	0	0	242	8,2	9	7,8	0	0
>65 años	484	4,3	6	2,8	5	27,8	118	4	3	2,6	0	0
TOTAL	11.157	100	212	100	18	100	2.950	100	116	100	6	100

Epidemiológica, enfermedades transmitidas por vectores DENGUE, SE01 hasta 52 / 2017/2018. Proporcionada por el Distrito de Salud Pública 23D01

Cabe notar que durante los períodos analizados 2017-2018 en el Ecuador, el grupo etario entre 20 y 49 años fue el más afectado con DSSA (46,8%), cada año, y con DCSA un 40,6% y 45,7% respectivamente. Coincidiendo también este grupo con los casos reportados de DG con un 33,3%. Existió bajo reporte en los menores de 5 años. En la Gaceta Epidemiológica analizada sólo se observan los casos de dengue por grupos etarios a nivel nacional sin especificar por provincias.

A diferencia de estos datos en Argentina se registraron mayor cantidad de casos en el grupo de edad entre 15-24 años, seguido del de 25-34 años³⁹. Al igual que en El Salvador donde se

obtuvieron mayores reportes de dengue en los grupos comprendidos entre uno y nueve años, con 44% para el 2017 y 61% en el 2018 ^{35,36}.

Al igual que en el Ecuador, en Perú el dengue afecta a todos los grupos de edades, sobre todo a su población joven y en edad productiva, con mayor porcentaje en el grupo de 30-59 años⁴⁰.

Mientras que, en Guatemala durante el 2017, los casos de dengue, si se comportaron de forma similar al Ecuador, siendo los las personas entre 25 y 39 años los más afectados⁴¹. Sin embargo, en el 2018, ocurrió a la inversa, los menores de 12 meses y entre 5-9 años fueron los grupos etarios más afectados⁴².

Se conoce que existen 4 serotipos (1, 2, 3, 4) de dengue. Si la primera vez que se expone el ser humano al virus de tipo 1, la enfermedad cursa de forma benigna es decir sin signos de alarma, ésta es la presentación más frecuente; pero si luego se infecta nuevamente por serotipos 2, 3 o 4, entonces hay mayores probabilidades de estar en presencia de dengue con signos de alarma o dengue grave que en ocasiones provoca la muerte³⁶.

Esta virosis producida por la picadura del mosquito *A. aegypti* y *A. albopictus* puede ser prevenida mediante la aplicación de múltiples medidas en zonas de endemia, con el objetivo de lograr su erradicación o al menos disminuir la población de estos vectores.

Entre estas medidas se encuentra la fumigación con insecticidas de tipos adulticidas para matar los mosquitos adultos y larvicidas para matar las larvas de estos, tanto dentro de la vivienda con equipos manuales de fumigación, como en los exteriores mediante carros de fumigación que permiten tratar en su totalidad a vecindarios o ciudades en corto período de tiempo, en comparación con otros métodos; pero además reduce y controla otro grupo de mosquitos que no propagan el virus, pero que sí son molestos⁴³.

Otras alternativas es eliminar los lugares enyerbados y las aguas estancadas que se encuentren en los alrededores de las viviendas, también tapar todos los depósitos de este líquido dentro y fuera de las mismas, así como reducir o eliminar los basureros, pues se puede acumular agua o existir humedad, lo cual propicia la fácil reproducción del mosquito transmisor del dengue.

Las acciones preventivas son muy importantes para evitar la propagación del dengue y no son tan costosas al compararlas con los gastos que se producen por los servicios de salud tanto para las personas como para los gobiernos; sólo se necesita educar a la población para que tome conciencia de la enfermedad y coopere con su erradicación o al menos en su disminución y control. Así como evitar tantas muertes causadas por epidemias de dengue.

CONCLUSIONES

1. En el análisis realizado sobre el comportamiento del Dengue en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas durante los años 2017 y 2018, se identificó al cantón La Concordia como el más afectado por esta viremia con un 58%, a pesar de que en el 2018 el cantón Santo Domingo reportó mayor porcentaje un 77%.
2. En el 2017 las semanas epidemiológicas que se diagnosticaron con mayor número de casos fue de la S16-21 con 23,3% y de la S21-25 con 25,3%, mientras que en el 2018 durante todas las semanas existieron porcentajes bajos.
3. De acuerdo con la clasificación del dengue según sus manifestaciones clínicas en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, entre el 2017-2018, el DSSA fue el más frecuente con un 98,8%, seguido de DCSA y DG con 1,03% y 0,07% respectivamente.
4. El grupo etario que predominó durante el período analizado fue el grupo comprendido entre 20 y 49 años, presentando un 46,8% de DSSA, 40,6% de DCSA en el 2017 y 45,7% en el 2018. Coincidiendo también este grupo con los casos reportados de DG con un 33,3%.

RECOMENDACIONES

1. Realizar campañas de Educación para la Salud por parte del Ministerio de Salud Pública de la provincia Santo Domingo de los Tsáchilas, con el objetivo de darle a conocer a la población, las características de la enfermedad del Dengue, cómo se transmite y a la vez cómo puede ayudar a erradicar mediante medidas de prevención, involucrando la responsabilidad y el compromiso de cada persona.
2. Informar a las autoridades pertinentes, la situación existente en esta provincia con la presencia de mosquitos *Aedes aegyptis* y *Aedes albopictus*, causantes de la transmisión del dengue, para que se involucren y ayuden a su erradicación o disminución de la población vectorial, a través de fumigación tanto a nivel de las viviendas como en espacios abiertos.
3. Educar a las personas a que cuando sientan algún síntoma de la enfermedad como fiebre y malestar general, acudan a recibir servicios de salud tanto públicos como privados, y así evitar llegar a complicaciones o muerte, que sólo traen dolor y gastos económicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. OMS. 24 de junio de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
2. Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades, Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Zoonóticas y Emergentes (NCEZID). 10 de diciembre de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/es/about/index.html>
3. OPS. Dengue: Alertas y actualizaciones epidemiológicas. 7 de febrero del 2020. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=rmore&cid=2158&item=dengue&type=alerts&Itemid=40734&lang=es
4. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 Junio. Disponible en: https://www.who.int/denguecontrol/resources/dengue_guidelines_2009/es/
5. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Ministerio de Salud Pública del Ecuador Web site. [Online].; 2020 [cited 2020 junio 27. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/estrategia-nacional-de-control-del-dengue/>
6. Álava A, Mosquera C, Mosquera C, Vargas W, Real J. Dengue en el Ecuador 1989-2002. Revista Ecuatoriana de higiene y medicina tropical. 2005; 42: p. 11-29. Disponible en: http://www.investigacionsalud.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2016/07/libro/pdf/2005_num_1.pdf
7. Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021 [Internet] Ecuador. Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo; 2015 [consulta el 12 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://planparatodoscloud.senplades.gob.ec/objetivo6>
8. López P, Robaina J, Hernández F, Santiso M. Comportamiento clínico-epidemiológico del dengue en Cuba. Una actualización necesaria. Revista Universidad Médica Pinareña. 2017 Enero-Junio; 13(1): p. 44-64. Disponible en: <http://galeno.pri.sld.cu>

9. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* 1998 Jul; 11(3): 480-96. Disponible en: <http://cmr.asm.org/content/11/3/480.long>
10. Organización Panamericana de la Salud. Dengue [Internet]. 2014 [citado 25 Jun 2020]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=1&Itemid=40734
11. Smith CEG. The history of dengue in tropical Asia and its probable relationship to the mosquito *Aedes aegypti*. *J Trop Med Hyg.* 1959; 59: 243-51.
12. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 Junio]. Disponible en: <https://www.who.int/topics/dengue/es/>.
13. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
14. Posada Fernández P, Retureta Milán ME, Ferrer Martín Y, Rodríguez Viera I. Brote epidémico de dengue en la ciudad de Ciego de Ávila. *MEDICIEGO* [Internet]. 2013 [citado 25 Jun 2014]; 19(Supl 1). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/mediciego/mdc-2013/mdcs131g.pdf>
15. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 Junio]. Disponible en: https://www.who.int/denguecontrol/resources/dengue_guidelines_2009/es/
16. Jacobs M. Dengue: surgimiento como un problema global de salud pública y perspectivas de control. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene.* 2000 Enero 1; 94(1). Disponible en: <https://academic.oup.com/trstmh/article-abstract/94/1/7/1885627?redirectedFrom=fulltext>

17. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Ministerio de Salud Pública del Ecuador Web site. [Online].; 2020 [cited 2020 junio 27. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/estrategia-nacional-de-control-del-dengue/>
18. Delgado Martínez I. Historia del dengue en Cuba. Infomed - Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas [Internet]. 2017 [citado junio 2020]. Disponible en: http://www.sld.cu/sitios/dengue/verpost.php?blog=http://articulos.sld.cu/dengue/&post_id=66&c=2987&tipo=2&idblog=158&p=1&n=dff
19. Kourí G. El dengue, un problema creciente de salud en las Américas. Rev Cubana Salud Pública [Internet]. 2011 [citado 26 Jun 2020]; 37(supl 5). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086434662011000500010&lng=es
20. Kourí GP, Guzmán MG, Bravo JR, Triana C. Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuban epidemic, 1981. Bull World Health Organ. 1989; 67(4): 375-80. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2491263/>
21. Chambers T, Monath T. The Flaviviruses: Structure, Replication, and Evolution San Diego: Elsevier Academic Press; 2003.
22. Hoyos Rivera AA, Pérez Rodríguez A. Actualización en aspectos epidemiológicos y clínicos del dengue. Rev Cubana Salud Pública [Internet]. 2010 Mar [citado Jun 2020]; 36(1): 149-164. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086434662010000100015&lng=es
23. Martínez E. Dengue. Scielo. 2008 diciembre; 2264. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142008000300004#:~:text=EI%20cuadro%20cl%C3%ADnico%20es%20de,hemorragias%20digestivas%20y%20elevada%20mortalidad.
24. Organización Panamericana de la Salud. Description of the current epidemiological trends of dengue in the Americas [Internet]. 2014 [citado 25 Jun 2020]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=4494&Itemid=40687&lang=en

25. OMS y el TDR. DENGUE: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. 2009th ed. La paz. Bolivia: Organización mundial de la salud ; 2009.
26. Suárez Rosas L. El silencio epidemiológico y la ética de la Salud Pública cubana. Rev Cubana Salud Pública [Internet]. 2013 Sep [citado 27 Jun 2020]; 39(3): 524-539. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086434662013000300009&lng=es.
27. Subsistema de vigilancia SIVE_ALERTA. Enfermedades transmitidas por vectores Dengue. Gaceta epidemiológica de vectores. Ecuador: Subsecretaría nacional de vigilancia de la salud pública, Dirección nacional de vigilancia epidemiológica; 2017. Report No.: SE 01-52/2017.
28. Subsistema de vigilancia SIVE_ALERTA. Enfermedades transmitidas por vectores Dengue. Gaceta epidemiológica por vectores. Ecuador: Subsecretaría nacional de vigilancia de la salud pública, Dirección nacional de vigilancia epidemiológica; 2018. Report No.: SE 01-52/2018.
29. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 Junio. Disponible en:
https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=4493:2010-informacion-general-dengue&Itemid=40232&lang=es
30. Musto A. MANUAL DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA. Segunda ed. Mezzadri LA, editor. BUENOS AIRES: Universidad Nacional Arturo Jauretche; 2013.
31. Frantchez V, Fornelli R, Pérez G, Arteta Z, Cabrera S, Sosa L, et al. Dengue en adultos: diagnóstico, tratamiento y abordaje de situaciones especiales. Revista Médica del Uruguay. 2016 Abril; 32(1). Disponible en:
http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902016000100006
32. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. CDC. [Online].; 2019 [cited 2020 Julio 6. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/es/healthcare->

providers/testing/serologic-

tests.html#:~:text=La%20prueba%20del%20dengue%20MAC,dengue%20(DENV1%2D4)

33. Esmeraldas, Santo Domingo, Los Ríos y Guayas con más probabilidad de lluvias. EL UNIVERSO. Ecuador. 8 de abril, 2017. Disponible en: <https://www.eluniverso.com/noticias/2017/04/08/nota/6128017/3-provincias-mas-probabilidad-lluvias>
34. Sánchez A. En la provincia Tsáchila lloverá más en abril, según Inamhi. Radio Macarena. 11 abril, 2018. Disponible en: <https://radiomacarena.com/lluvias-santo-domingo/>
35. Actualización Epidemiológica: Dengue. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. 22 de febrero de 2019, Washington, D.C. OPS/OMS. 2019. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=2019-3&alias=47784-22-de-febrero-de-2019-dengue-actualizacion
36. CUBADEBATE. Mosquito Aedes aegypti: Una época del año clave para su reproducción y para la lucha anti vectorial. 18 septiembre 2019. Disponible en: <http://www.cubadebate.cu/noticias/2019/09/18/mosquito-aedes-aegypti-una-epoca-del-ano-clave-para-su-reproduccion-y-para-la-lucha-antivectorial/>
37. Ministerio de Salud. Boletín epidemiológico semana 52. Gaceta Epidemiológica. El Salvador:, Dirección de Vigilancia Sanitaria; 2017. Disponible en: [file:///D:/RESPALDO.cs/Downloads/Boletin_epidemiologico_SE522017%20\(1\).pdf](file:///D:/RESPALDO.cs/Downloads/Boletin_epidemiologico_SE522017%20(1).pdf)
38. Ministerio de Salud. Boletín epidemiológico semana 52. Gaceta Epidemiológica. El Salvador:, Dirección de Vigilancia Sanitaria; 2018. Disponible en: file:///D:/RESPALDO.cs/Downloads/Boletin_epidemiologico_SE522018_v2.pdf
39. Organización Panamericana de la Salud. PAHO. [Internet].; 2018 [citado 2020 Septiembre]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug

[g=dengue-2158&alias=47046-21-de-noviembre-de-2018-dengue-alerta-epidemiologica&Itemid=270&lang=es.](https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2018/52.pdf)

40. Ministerio de Salud Perú. Boletín epidemiológico del Perú. , Centro Nacional de Epidemiología , Prevencion y Control de enfermedades; 2018. Report No.: ISSN 2415-0762. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2018/52.pdf>
41. Gobierno de la Republica de Guatemala. Situación Epidemiológica de las Arbovirosis en Guatemala. Boletín Epidemiológico. Guatemala: Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social, Epidemiología; 2017. Report No.: 43-2017. Disponible en: <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/Publicaciones%202017/Arbovirosis/Situaci%C3%B3n%20Epidemiol%C3%B3gica%20Arbovirosis%20Sem%2043.pdf>
42. Gobierno de la Republica de Guatemala. Situación Epidemiológica de las Arbovirosis en Guatemala. Boletín epidemiológico. Guatemala: Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social, Epidemiología; 2018. Report No.: 52-2018. Disponible en: <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/Publicaciones%202018/Arbovirosis/arbovirosis%20Sem%2052%20del%202018.pdf>
43. Dengue. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. 10 de diciembre de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/spanish/>

ANEXOS

Anexo 1: Clasificación según síntomas y signos de dengue

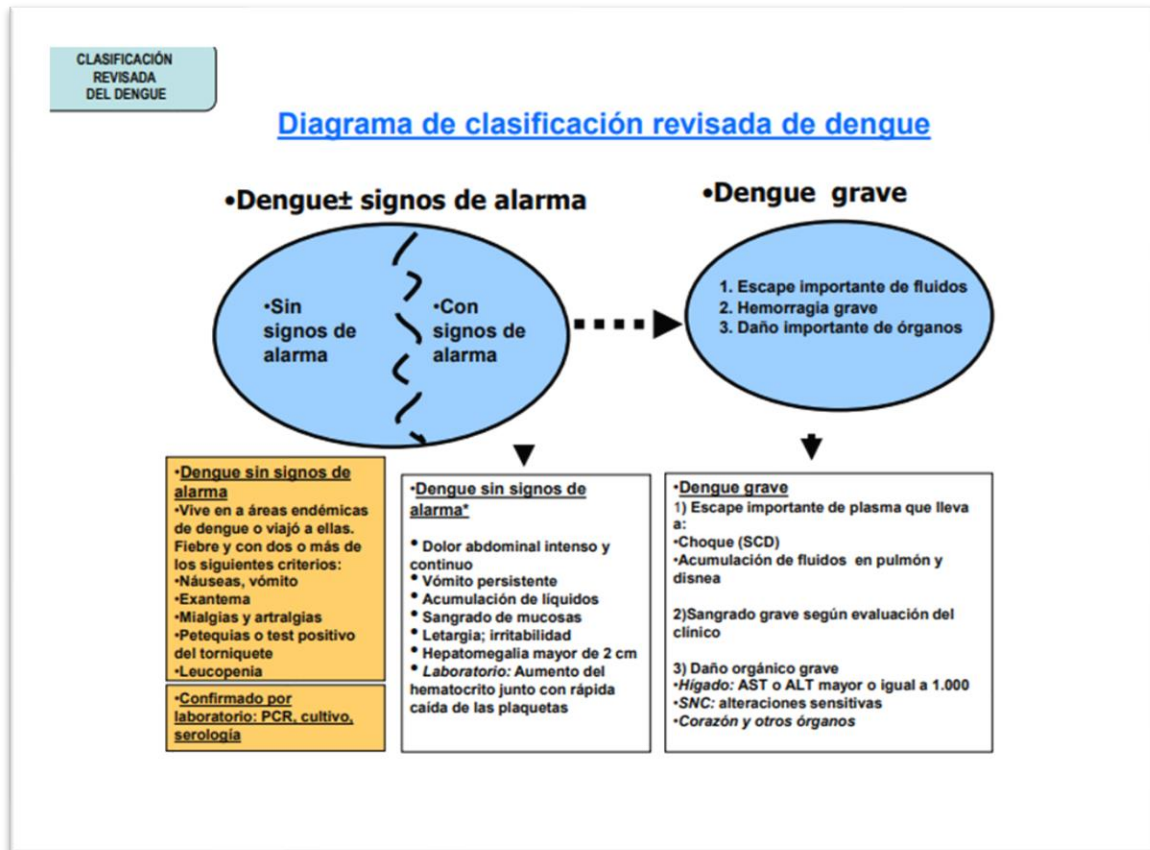


Ilustración 1 Clasificación según síntomas y signos de dengue. Obtenida de <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2014/Diagrama-clasificacion-revisada-dengue.pdf>

Anexo 2. Oficio de aprobación del MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Dirección distrital 23D01 – Salud, para el uso de su base de datos.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
Dirección Distrital 23D01 – Salud



Oficio Nro. MSP-CZ4S-DDS-N° 23D01-2020-0499-OF
Santo Domingo De Los Tsáchilas, 16 de marzo de 2020

Asunto: RESPUESTA: U.N.CH. SOLICITA AUTORIZACIÓN PARA ACCEDER A DATOS SOBRE DENGUE PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Magister - UNACH
Ximena del Rocío Robalino Flores
En su Despacho

De mi consideración:

Reciba un cordial saludo, en respuesta al Documento No. OFICIO-MARZO-2020, "U.N.CH. SOLICITA AUTORIZACIÓN PARA ACCEDER A DATOS SOBRE DENGUE PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN", mediante la presente adjunto el link, en el que se encuentran los Gacetas Epidemiológicas sobre la situación del Ecuador por provincias, en cuanto a las enfermedades vectoriales, correspondiente a los años 2017, 2018, 2019 y 2020.

<https://drive.google.com/drive/folders/115ov0E26BmYN5ItXbowAbecH-LRMzN5?usp=sharing>

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Documento firmado electrónicamente

Lcda. Percides Esther Quiñonez Canga
DIRECTORA DEL DISTRITO N23D01 A SALUD

Referencias:
- MSP-DDS-N°-23D01-VI-2020-0994-EXT

Anexos:
- msp-dds-n°-23d01-vi-2020-0994-ext.pdf

Copia:
Señorita Doctora
Katerine Gabriela Aguirre Rojas
Especialista Distrital de Vigilancia Epidemiológica I

Señor Tecnólogo
Holger Cristóbal Cargas Calvache
Técnico de Ventanilla Única

Dirección: Av. Quito y Ambato Esquina, Sto. Dgo. - Ecuador
Código Postal: 2301002 / www.salud.gob.ec
Teléfono: 0803 (002) 2750-441
Correo electrónico: Coordinación_Zonal_4_-_Salud, **Twitter:** @Salud_CZ4

Lenin



Oficio Nro. MSP-CZ4S-DDS-N° 23D01-2020-0499-OF
Santo Domingo De Los Tsáchilas, 16 de marzo de 2020

ka



PERCIDES ESTRELLA
QUINONES CANSA

Dirección: Av. Quito y Ambato Esquina, Sta. Dgo. - Ecuador

Código Postal: 230102 / www.salud.gob.ec

Teléfono: 099 (02) 2750 441

Facebook: [Coordinación Zonal 4 - Salud](#), **Twitter:** @Salud_CZ4

Lenin



Anexo 3. Inserto Panbio Dengue Early ELISA



Prohibida su venta o distribución en Estados Unidos de América Panbio Dengue Early ELISA

Cat No. 01PE40

USO PREVISTO

El ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio es un ensayo ELISA para la captura del antígeno NS1 del dengue. Se utiliza para la detección cualitativa del antígeno NS1 en suero como ayuda para el diagnóstico en laboratorios clínicos de pacientes con síntomas clínicos indicativos de fiebre del dengue. El ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio debe utilizarse junto con otros análisis serológicos para el dengue.

INTRODUCCIÓN

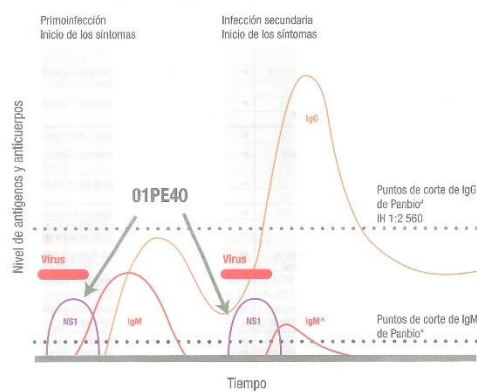
El virus del dengue pertenece a la familia de los flavivirus, que se encuentra en regiones extensas de los trópicos y los subtropicales. Más de la mitad de la población mundial vive en regiones con riesgo de una posible transmisión del dengue, lo que lo convierte en la enfermedad causada por arbovirus más importante en seres humanos, en términos de morbilidad y mortalidad. Existen cuatro serotipos del virus del dengue claramente diferenciados pero antígenicamente relacionados que se transmiten por medio de mosquitos hembra, principalmente los de las especies *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* y *Aedes polynesiensis*.

La infección por el virus del dengue presenta manifestaciones clínicas variadas, desde asintomáticas a mortales. La enfermedad puede clasificarse en función de su gravedad en los siguientes tipos: enfermedad febril no específica, fiebre del dengue clásico, fiebre del dengue hemorrágico (FDH) (grados I y II) y síndrome de choque por dengue (SCD) (grados III y IV). La fiebre del dengue clásico se caracteriza por la aparición repentina de fiebre, que se manifiesta junto con dos o más de los siguientes síntomas: cefalea, dolor retroorbital, mialgia, artralgia, exantema, manifestaciones hemorrágicas o leucopenias. Es frecuente una evolución febril bifásica, así como insomnio y anorexia con pérdida del sentido del gusto o un sabor amargo. La fiebre hemorrágica del dengue y el síndrome de shock por dengue son complicaciones graves potencialmente mortales que a menudo se asocian a la infección por un segundo serotipo¹.

El diagnóstico precoz del dengue permite administrar un tratamiento sintomático y una monitorización tempranas. Esto reduce el riesgo de complicaciones tales como la fiebre hemorrágica del dengue o el síndrome de shock del dengue, especialmente en los países en los que el dengue es endémico².

La detección del antígeno NS1 del dengue con el ensayo ELISA es un procedimiento muy útil, ya que permite detectar la infección antes de que tenga lugar la seroconversión. El antígeno NS1 se puede detectar en el suero desde el día 1 tras el inicio de la fiebre y hasta el día 5^{3,4} (véase la ilustración). En contraste, los anticuerpos IgM no son detectables hasta los días 3-5⁵. La infección secundaria por virus del dengue se caracteriza por altos niveles de IgG, con un intervalo de detección óptimo entre 6 y 15 días después del comienzo de la enfermedad, que pueden estar acompañados de niveles elevados de IgM^{6,7}. El ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgG contra el dengue de Panbio está diseñado para detectar los altos niveles de anticuerpos IgG específicos de la infección por dengue por encima de este umbral. El ensayo, sin embargo, no detecta las concentraciones bajas de anticuerpos IgG de exposiciones pasadas que, con frecuencia, presentan muchos sujetos procedentes de regiones endémicas. Para obtener el diagnóstico más exacto posible del dengue en pacientes que acuden en varias etapas de la enfermedad, conviene combinar el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio (01PE40), el ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgM contra el virus del dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgG contra el virus del dengue de Panbio (01PE10).

Infección por dengue : respuesta inmunitaria



Puntos de corte del cartucho de dengue Duo y del ensayo ELISA de captura de IgG de Panbio. Equivale aproximadamente a un título de 2.560 en la prueba de inhibición de hemaglutinación (IH).
* Puntos de corte del cartucho de dengue Duo y del ensayo ELISA de captura de IgM de Panbio.
^ Los niveles de IgM en una infección secundaria pueden ser indetectables.

PRINCIPIO

Cuando está presente, el antígeno sérico NS1 del dengue se une a los anticuerpos anti-NS1 ligados a la superficie de poliestireno de los micro pocillos. El suero restante se elimina mediante lavado y se agrega anticuerpo monoclonal (MAb) anti-NS1 conjugado con peroxidasa de rábano (HRP). Después del período de incubación, los micro pocillos se lavan y se agrega un sistema de sustrato incoloro de tetrametilbenzidina y peróxido de hidrógeno (cromógeno de TMB). La enzima hidroliza el sustrato y la TMB se vuelve de color azul. Después de detener la reacción con ácido, la TMB se vuelve de color amarillo. Los cambios de color indican la presencia del antígeno NS1 del dengue en la muestra de la prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. *Micro pocillos recubiertos de anticuerpos anti-NS1 (12 x 8 pocillos)*: los micro pocillos están recubiertos de anticuerpos anti-NS1. Listo para usar. Los micro pocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
2. *MAB anti-NS1 conjugado con HRP*: un frasco de 15 mL (naranja). Anticuerpo monoclonal anti-NS1 conjugado con peroxidasa de rábano con conservante (Proclin™ al 0,1%). Listo para usar. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad. ⊕
3. *Tampón de lavado (20x)*: un frasco de 60 mL de solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2-7,6) concentrada 20x con Tween 20 y conservante (Proclin™ al 0,1%). A temperaturas bajas puede producirse cristalización. Para corregirla, incube a una temperatura de 37 °C hasta que desaparezca. Mezcle bien. Diluya una parte del tampón de lavado concentrado con 19 partes de agua destilada. El tampón diluido puede almacenarse durante una semana entre 2 y 25 °C. ⊕
4. *Diluyente para muestra*: un frasco de 22 mL (marrón). Listo para usar. Solución salina tamponada con Tris (pH 7,2-7,6) con conservantes (Proclin™ al 0,1%) y aditivos. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad. ⊕
5. *Cromógeno TMB (TMB)*: un frasco de 15 mL. Listo para usar. Una mezcla de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina y peróxido de hidrógeno en un tampón de citrato-ácido cítrico (pH 3,5-3,8). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
6. *Control positivo*: un vial de tapón morado con 1,2 mL de antígeno recombinante (contiene Proclin™ al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad. ⊕
7. *Calibrador*: dos viales de tapón naranja con 1,5 mL de antígeno recombinante (contiene Proclin™ al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad. ⊕
8. *Control negativo*: un vial de tapón blanco con 1,2 mL de suero humano (contiene ácido sulfúrico al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
9. *Solución de parada*: un frasco de tapón rojo con 15 mL. Listo para usar. Ácido fósfórico 1M. Estable entre 2 y 25 °C hasta su caducidad.

Proclin™ 300 es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

✳ Clasificación según la normativa (CE) n.º 1272/2008:

Identificador del producto	Nombre comercial	Tampón de lavado, Diluyente para muestra, Conjugados con HRP, Control positivo, Calibrador
	Sustancia peligrosa	Proclin 300 (5-cloro-2-metil-4-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Clasificación		Corrosión o irritación cutáneas Categoría2 Lesiones o irritación ocular graves Categoría2 Sensibilización cutánea Categoría1
Pictograma de riesgo		
Palabra de advertencia		Atención
Indicación de peligro		H315: Provoca irritación cutánea H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel H319: Provoca irritación ocular grave
Consejos de prudencia		
Prevención		P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación P272: Las prendas de trabajo contaminadas no deben sacarse del lugar de trabajo P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
Respuesta		P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P321: Se necesita un tratamiento específico P332+P313: En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico P337+P313: Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico P362: Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas
Eliminación		P501: Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local, regional, nacional o internacional

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Micro pipetas de precisión ajustables con puntas de pipeta desechables (capacidad 5-1000 µL)
2. Agua desionizada
3. Sistema de lavado de microplacas
4. Lector de microplacas con un filtro de 450 nm
5. Cronómetro
6. Probeta graduada
7. Matraz
8. Tubos de ensayo o microplaca para diluciones

PRECAUCIONES

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. Todas las muestras de origen humano utilizadas en la preparación de los controles han dado resultados negativos en las pruebas para los virus 1 y 2 de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el antígeno de superficie de la hepatitis B. Sin embargo, ningún método ofrece una garantía completa y todos los controles y antígenos humanos deben manipularse como material potencialmente infeccioso. Los Centers for Disease Control and Prevention y los National Institutes of Health recomiendan manipular los agentes potencialmente infecciosos en laboratorios de contención biológica de nivel 2¹.
2. Esta prueba solo debe realizarse con suero. No se ha establecido el uso de sangre completa, plasma u otras matrices de muestras.
3. No se deben utilizar sueros ictericos o lipídemicos o sueros que presenten hemólisis o crecimiento microbiano.
4. No inactive los sueros con calor.
5. Todos los reactivos deben estar estabilizados a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) antes de comenzar el ensayo. Los cambios de temperatura afectan al ensayo. No saque los micro pocillos de la bolsa cerrada hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).
6. Dispense los reactivos directamente de los frascos utilizando puntas de pipeta limpias. Al transferirlos pueden contaminarse.
7. Los micro pocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Si no se lleva a cabo este paso pueden obtenerse resultados erróneos.
8. Sistema de sustrato:
 - (a) Dado que la TMB se puede contaminar con iones metálicos, no permita que el sistema de sustrato entre en contacto con superficies metálicas.
 - (b) Evite una exposición prolongada a la luz directa.
 - (c) Algunos detergentes pueden interferir con el rendimiento de la TMB.
 - (d) La TMB puede presentar un tenue color azulado, lo que no afecta a la actividad del sustrato ni a los resultados del ensayo.
9. Algunos componentes del kit contienen ácido sulfúrico, que puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar compuestos de ácidos metálicos altamente explosivos. Al desechar estos reactivos por las tuberías,



- hégalo vertiendo una gran cantidad de agua con el fin de evitar que la acida se acumule en las cañerías.
- La acida sódica inhibe la actividad del conjugado. Para agregar el conjugado deben utilizarse puntas de pipeta limpias, de forma que no se transfiera acida sódica de otros reactivos.

OBTECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La sangre extraída por venopunción debe dejarse coagular a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) y centrifugarse siguiendo el procedimiento del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Approved Standard – Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3). El suero debe separarse lo antes posible y conservarse refrigerado (2 – 8 °C) o congelado (≤ -20 °C) si no se va a analizar en el plazo de dos días. No se recomienda usar congeladores con descongelación automática para almacenar las muestras. No se recomienda emplear sueros ictericos o sueros que presenten hemólisis, lipidemia o crecimiento microbiano. El CLSI proporciona recomendaciones para almacenar las muestras de sangre (Approved Standard – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Nota: compruebe que todos los reactivos se han estabilizado a temperatura ambiente (20–25 °C) antes de comenzar el ensayo. Si lleva a cabo el ensayo fuera de los intervalos de tiempo y temperatura proporcionados, se pueden obtener resultados incorrectos. Los ensayos que se realicen fuera de los intervalos de tiempo y temperatura establecidos deben repetirse.

Predilución del control y de la muestra

- Saque el número necesario de micropocillos de la bolsa de aluminio e insértelos en el soporte para tiras. Se necesitan cinco micropocillos para el control positivo (P), el control negativo (N) y el calibrador (CAL) por triplicado. Asegúrese de que los micropocillos que no se utilicen se vuelven a guardar en la bolsa de aluminio sellada con el secante.
- Usando tubos de ensayo o una placa de microtitulación adecuados, diluya el control positivo, el control negativo, el calibrador y las muestras del paciente. Agregue 75 μ L de diluyente para muestra a 75 μ L de muestra. Mezcle bien.

La dilución final de la muestra es de 1 a 2.



No agite los controles en el vórtex. Los controles contienen glicerol. Asegúrese de que los controles diluidos están bien mezclados. Mezcle bien por inversión o pipeteando con suavidad. La agitación en un vórtex no es eficaz.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ELISA

- Pipetee 100 μ L de las muestras de análisis y los controles diluidos en sus respectivos micropocillos.
- Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C \pm 1 °C.
- Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
- Pipetee 100 μ L de MAb anti-NS1 conjugado con HRP en cada pocillo.
- Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C \pm 1 °C.
- Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
- Pipetee 100 μ L de TMB en cada pocillo.
- Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C), cronometrando desde la primera adición. Se formará un color azul.
- Pipetee 100 μ L de la solución de parada en todos los pocillos en el mismo orden y tiempo que cuando se agregó la TMB. Mezcle bien. El color azul cambiará a amarillo.
- Antes de 30 minutos, lea la absorbancia de cada pocillo a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de entre 600 y 650 nm.

Nota: si dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fije el filtro de referencia entre 600–650 nm. Si lee los micropocillos a una longitud de onda de 450 nm sin un filtro de referencia, puede obtener valores de absorbancia más elevados debido al fondo.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Un lavado eficaz para eliminar los componentes o muestras sin acolear es un requisito fundamental del procedimiento del ensayo ELISA.

A. Dispositivo de lavado de placas automatizado

- Aspire completamente todos los pocillos.
- Llene todos los pocillos hasta el borde (350 μ L) durante el ciclo de lavado.
- Al terminar los seis (6) lavados, invierta la placa y golpee firmemente sobre papel absorbente para garantizar que se elimina todo el tampón.
- Los dispositivos de lavado de placas automatizados deben mantenerse adecuadamente con el fin de garantizar la eficacia de los lavados. Deben seguirse siempre las instrucciones de limpieza del fabricante.

B. Lavado manual

- Deseche el contenido de la placa en un contenedor apropiado.
- Llene los pocillos con tampón de lavado utilizando una botella flexible adecuada. Procure que no se formen burbujas en el tampón de lavado, ya que esto reduciría la eficacia. Deseche el tampón de lavado de los pocillos inmediatamente.
- Vuelva a llenar los pocillos con tampón de lavado y deséchelo rápidamente.
- Repita el paso (3) otras cuatro veces. Esto da un total de seis (6) lavados con tampón de lavado.
- Después del último lavado, elimine el contenido de los pocillos y golpee la placa sobre papel absorbente para garantizar que se ha eliminado todo el tampón de lavado.

CONTROL DE CALIDAD

Cada kit contiene un calibrador y controles positivos y negativos, cuyos valores aceptables se encuentran en la hoja de especificaciones que se incluye en el estuche. Los controles negativos y positivos están previstos para controlar un fallo sustancial del reactivo. El control positivo no asegura la precisión del punto de corte del ensayo. El análisis no es válido y se debe repetir si las lecturas de absorbancia de los controles o del calibrador no cumplen las especificaciones. Si el resultado del análisis no es válido, no se pueden presentar los resultados del paciente. Los requisitos del control de calidad deben ajustarse a la normativa local o nacional (o a los requisitos de acreditación) y a los procedimientos de control de calidad normalizados de su laboratorio. Se recomienda al usuario que consulte los documentos CLSI C24-A y 42 CFR 493.1256 para obtener información acerca de los procedimientos de control de calidad adecuados.

CÁLCULOS

NOTA IMPORTANTE: el factor de calibración es específico de cada lote y figura en la hoja de datos técnicos. Consulte el valor del factor de calibración antes de comenzar los cálculos.

- Calcule la absorbancia promedio de los triplicados del calibrador y multiplique por el factor de calibración. Este es el valor del punto de corte.
- El valor índice se puede calcular dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor del punto de corte (calculado en el paso (1)).

De manera alternativa:

- Las unidades Panbio se pueden calcular multiplicando el valor índice (calculado en el paso (2)) por 10.

Valor índice = $\frac{\text{absorbancia de la muestra}}{\text{valor del punto de corte}}$

Ejemplo: absorbancia de la muestra A = 0.949
Absorbancia de la muestra B = 0.070

Absorbancia media del calibrador = 0,802
Factor de calibración = 0,62
Valor del punto de corte = 0,802 x 0,62 = 0,497

Muestra A (0.949/0.497) = 1.91 de valor
Muestra B (0.070/0.497) = 0.14 de valor

Unidades Panbio = Valor índice X 10

Muestra A 1.91 X 10 = 19.1 unidades Panbio
Muestra B 0.14 X 10 = 1.4 unidades Panbio

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El punto de corte se ha determinado utilizando poblaciones endémicas y no endémicas de Australia, Honduras y Tailandia.

Diagnóstico de infección por dengue: el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio determina la presencia del antígeno NS1 del dengue en el suero de un paciente. Un resultado positivo (> 11 Unidades Panbio) indica una primoinfección o infección secundaria activa por dengue. Si se necesita distinguir entre primoinfección e infección secundaria, debe emplearse el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de IgG contra el dengue de Panbio (01PE10).

ÍNDICE	UNIDADES PANBIO	RESULTADO
<0.9	<9	Negativo
0.9–1.1	9–11	Dudoso
>1.1	>11	Positivo

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Negativo	No se detecta el antígeno NS1 del dengue. El resultado no descarta la infección por dengue. Esta muestra debe someterse a un análisis serológico. Si al resultado de esta muestra es negativo, pero se sospecha que puede estar infectada por el virus del dengue, conviene extraer y someter a un análisis serológico una muestra de seguimiento antes de 14 días desde la obtención de la primera muestra.
Dudoso	Se debe repetir el análisis de las muestras dudosas. Si las muestras siguen dando un resultado dudoso al repetir el ensayo, es necesario volver a analizarlas utilizando un método alternativo o bien obtener otra muestra.
Positivo	Presencia del antígeno NS1 del dengue detectable. Deben hacerse pruebas serológicas de dengue a muestras de seguimiento con el fin de confirmar la infección por dengue.

Forma recomendada de comunicar los resultados obtenidos: "Los siguientes resultados se obtuvieron con el kit del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Los valores obtenidos con métodos diferentes no pueden intercambiarse. La magnitud del resultado medido (por encima del punto de corte) no indica la cantidad total de antígeno presente". El resultado debe comunicarse como positivo, negativo o dudoso y no como un valor numérico.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- El diagnóstico clínico debe interpretarse junto con los signos y síntomas clínicos del paciente. Los resultados de este kit no proporcionan por sí solos un diagnóstico concluyente. Por consiguiente, deben considerarse junto con otros síntomas y datos clínicos del paciente.
- No se debe llevar a cabo un estudio de cribado de la población general. El valor de predicción positivo depende de la probabilidad de que el virus esté presente. Solo debe hacerse la prueba a pacientes que presenten síntomas clínicos o cuando se sospeche que han estado expuestos al virus.
- Es frecuente encontrar una reacción serológica cruzada dentro del grupo de los flavivirus (es decir, entre dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis del valle de Murray, encefalitis japonesa, fiebre amarilla y el virus del Nilo Occidental). Antes de confirmar el diagnóstico, deben descartarse estas enfermedades.
- No se han establecido las características de rendimiento para la determinación visual de los resultados.
- Todos los sueros que den positivo en el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio deben remitirse a un laboratorio de referencia para confirmar el resultado positivo para el dengue y para su registro epidemiológico.
- El ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio (01PE20) y el ensayo ELISA de captura de IgG contra el dengue de Panbio (01PE10) son los más convenientes para la determinación de los anticuerpos IgM e IgG. Ambos emplean el mismo método de captura, de manera que tanto los anticuerpos IgM como los anticuerpos IgG se determinan mediante el uso de un método y una dilución sérica comunes. También se pueden utilizar para la diferenciación provisional entre primoinfección e infección secundaria por dengue.

VALORES PREVISTOS

El antígeno NS1 del dengue solo se detecta en el suero del paciente en las primeras fases de la evolución de la enfermedad, entre 1 y 9 días después de la manifestación de los signos clínicos^{3,4,7}. En el momento en que se producen los anticuerpos IgG anti-NS1 (lo que normalmente coincide con la defervescencia), el antígeno NS1 deja de ser detectable en suero. Por lo tanto, el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio es un marcador de infección aguda activa solamente. Fuera de este intervalo temporal, la infección por dengue debe diagnosticarse usando pruebas serológicas alternativas.

La primoinfección por dengue se caracteriza por la presencia de niveles significativos o aumentados de IgM a los 3 o 5 días del comienzo de la enfermedad, que pueden mantenerse durante 3 a 5 meses. La infección secundaria se caracteriza por altos niveles de IgG que ya se pueden detectar tras días después del comienzo de la infección, y que pueden ir acompañados de niveles de anticuerpos IgM elevados^{3,11}. En fases tempranas de la infección y en algunas sobreinfecciones, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Sin embargo, el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio ayuda a detectar la presencia incipiente del antígeno en suero. Si los síntomas persisten, se recomienda repetir las pruebas serológicas de los pacientes antes de 14 días desde la obtención de la primera muestra.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Centro de estudio 1

Se analizaron 235 muestras de suero retrospectivas de personas de distintas edades y ambos sexos con el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio en un centro altamente acreditado de Vietnam. Las muestras se extrajeron de pacientes que presentaban síntomas de dengue, y se caracterizaron mediante una combinación de PCR, cultivos de virus y ensayos ELISA para detectar IgG e IgM. Se incluyeron muestras de los siguientes grupos: 47 muestras de pacientes sin indicios serológicos o virológicos de infección aguda o reciente por dengue y 188 muestras de pacientes con dengue confirmado mediante análisis de laboratorio. Las muestras positivas procedían de pacientes con primoinfección (49) e infección secundaria (139) por dengue que habían sido infectados por los serotipos del virus del dengue 1, 2 y 3. La tabla 1 recoge un resumen de los datos.

Tabla 1: centro de estudio 1
Sensibilidad y especificidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Estado del dengue	ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio			Total
	Positivo	Dudoso	Negativo	
Infección aguda por dengue	146	0	42	188
Negativo para dengue	3	0	44	47
Total	149	0	86	235

Sensibilidad (positivo para dengue) = 146/188 = 77.7%
Especificidad = 44/47 = 93.6%
Concordancia total = 190/235 = 80.9%

* Intervalo de confianza

95% CI
71.7 – 83.6%
82.5 – 98.7%
75.8 – 85.9%

Centro de estudio 2

Se seleccionaron 257 pacientes que mostraban síntomas de fiebre (5 días tras el inicio de los síntomas) para participar en un estudio realizado por un laboratorio de referencia de Tailandia. Se analizaron las muestras para dengue agudo y se obtuvieron 75 muestras positivas y 182 muestras negativas para dengue. Las muestras positivas se debían a infecciones provocadas por los serotipos del virus del dengue 1, 2, 3 y 4. Todas las muestras se analizaron con el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. La tabla 2 recoge un resumen de los datos.

Tabla 2: centro de estudio 2
Sensibilidad y especificidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio			
Estado del dengue	Positivo	Negativo	Total
Infección aguda por dengue	57	18	75
Negativo para dengue	3	179	182
Total	60	197	257

95% CI*

Sensibilidad (positivo para dengue) = 57/75 = 76.0% 64.8 – 85.1%
Especificidad = 179/182 = 98.4% 95.3 – 99.7%
Concordancia total = 236/257 = 91.8% 87.8 – 94.9%

* Intervalo de confianza

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio se estableció analizando 8 muestras, tres veces cada una con tres lotes distintos del kit, en tres días distintos. La precisión total intraserial, interdiaria e inter lotes se estimó mediante el análisis de la varianza (ANOVA de tipo II) y se indica en la tabla 3.

Tabla 3
Mediciones de la precisión del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio (usando el valor índice*)

Muestra	n	Intraserial			Interdiaria			Entre lotes			Total	
		*Media	*DE	CV	*DE	CV	*DE	CV	*DE	CV	*DE	CV
Positivo	27	3.22	0.16	5.0%	0.05	1.7%	0.17	5.3%	0.22	6.8%		
Calibrador	27	1.71	0.05	2.7%	0.00	0.0%	0.20	11.4%	0.17	9.8%		
Negativo	27	0.22	0.03	11.4%	0.02	9.0%	0.05	21.4%	0.05	22.4%		
#1	27	5.72	0.31	5.4%	0.29	5.1%	0.39	6.7%	0.51	8.9%		
#2	27	5.02	0.17	3.4%	0.12	2.4%	0.12	2.4%	0.22	4.4%		
#3	27	3.94	0.25	6.4%	0.13	3.4%	0.02	0.5%	0.28	7.0%		
#4	27	1.44	0.08	5.3%	0.06	4.0%	0.06	3.9%	0.10	7.1%		
#5	27	1.58	0.09	5.9%	0.00	0.0%	0.08	4.8%	0.11	7.0%		
#6	27	1.85	0.14	7.5%	0.09	5.0%	0.11	6.1%	0.18	10.0%		
#7	27	0.83	0.03	3.6%	0.00	0.0%	0.04	4.7%	0.04	5.3%		
#8	27	0.88	0.07	7.6%	0.02	2.3%	0.02	2.2%	0.07	8.0%		

Todos los valores están calculados a partir de valores índice (punto de corte mediante densidad óptica)
DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación

Nota: los resultados de desviación estándar se han redondeado a dos decimales por motivos de tabulación.
* El valor índice se calcula dividiendo la absorbancia de la muestra entre el valor del punto de corte.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizó un panel compuesto por 390 muestras de pacientes con enfermedades confirmadas distintas del dengue para establecer la especificidad analítica del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Las muestras procedían de pacientes con enfermedades con una posible reactividad cruzada. En cada una de las muestras incluidas en el estudio se identificó el diagnóstico de la enfermedad antes de aplicar el ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio. Se observó una reactividad cruzada mínima entre las 390 muestras. Consulte la tabla 4 para ver un resumen de los resultados.

Tabla 4
Análisis de la reactividad cruzada del ensayo ELISA para la detección precoz del dengue de Panbio

Tipo de Enfermedad*	Muestras totales	Resultado positivo
Virus de Epstein-Barr	28	0/28
Malaria	26	0/26
Anticuerpo antinuclear	16	0/16
Factor reumatoide	26	1/26
Hepatitis A	30	0/30
Leptospirosis	20	0/20
Virus del Nilo Occidental	10	0/10
Tifus de las maldades	7	2/7
Fiebre de chikungunya	32	1/32
Hepatitis B	30	5/30
Hepatitis C	26	0/26
Fiebre Q	24	0/24
Gripe	32	0/32
Virus del río Ross	23	0/23
Citomegalovirus	20	0/20
Rubéola	20	0/20
Sarampión	20	0/20
Total	390	9/390

* Caracterización basada en la serología.

BIBLIOGRAFÍA

- Mairuhu ATA, Wagenaar J, Brandjes DPM and van Gorp ECM. (2004). Dengue: an arthropod-borne disease of global importance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 23:425-433.
- Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletneva SV, Corver J, Lenches E, Jones CT, Mukhopadhyay S, Chipman PR, Strauss EG, Baker TS and Strauss JH. (2002). Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* 108:717-725.
- Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerchariya S, Chongsasdi V, Suntayakorn S, Puthisi P and Hoke CH. (1989). An enzyme linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *Am J Trop Med Hyg*. 40:418-427.
- Ong A, Sandar M, Chen MI and Yee Sin L. (2007). Fatal dengue hemorrhagic fever in adults during a dengue epidemic in Singapore. *Int J Infect Dis*. 11(3):263-267.
- Librarty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, Vaughn DW, Nisalak A, Ennis FA and Rothman AL. (2002). High circulating levels of the dengue virus non-structural protein NS1 EARLY in dengue illness correlate with the development of dengue haemorrhagic fever. *J Infect Dis*. 186:1165-1168.
- Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V and Flammand M (2002). Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J Clin Microbiol*. 40:376-381.
- Young PR, Hilditch PA, Bletchly C and Halloran W. (2000). An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol*. 38:1053-1057.
- Lindgren G, Vene S, Lundkvist A and Falk KI. (2005). Optimized diagnosis of acute dengue fever in Swedish travelers by a combination of reverse transcription-PCR and immunoglobulin M detection. *J Clin Microbiol*. 43:2850-2855.

- Shu P and Huang J. (2004). Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 11:642-650
- Hawkes RA, Boughton CR, Naim HM, Wild J and Chapman B. (1985). Arbovirus infections of humans in New South Wales. Seroepidemiology of the flavivirus group of togaviruses. *Med J Aust*. 143:555-561.
- World Health Organisation. (1997). Dengue Haemorrhagic Fever: diagnosis, treatment, prevention and control, p34-36. 2nd edition. World Health Organisation Office of Publications Geneva, Switzerland.
- U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1999). p. 8-16. In (ed.) Richmond JT, McKinney RW. Guidelines: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

Date Issued : 2016. 03
01PE40-01-Es-2

Información de contacto del servicio de asistencia técnica

Para obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor o con los expertos en asistencia técnica:

Región	Teléfono	Dirección de correo electrónico
Europe & Middle East	+ 44 161 463 9032	EMProductsupport@alere.com
Asia Pacific	+ 61 7 3363 7711	APProductsupport@alere.com
Africa, Russia, & CIS	+ 972 8 9429 683	APCISProductsupport@alere.com
Latin America	+ 57 2 66 18797	LAPProductsupport@alere.com

Manufactured by
STANDARD DIAGNOSTICS, INC.
85, Dorshagall-ro, Gibeuro-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea
Tel: 82-31-898-2858 Email: Panbio@stdi.com
www.alere.com

Authorized Representative
MT Promed Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80 D- 86380 St. Ingbert Germany
Phone: +49 694 551020, Fax: +49 694 551021

PANBIO ELISA PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DEL DENGUE 01PE40

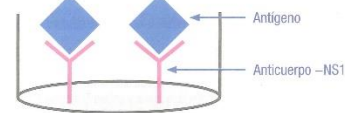
No agite los controles en el vórtex. Mezcle bien por inversión o pipeteando con suavidad.

Antígeno

1. Agregue 75 µL de diluyente para muestra a 75 µL de cada muestra y los controles. La dilución final es de 1 en 2.

2. Agregue 100 µL de controles y muestras diluidas a la placa de la prueba.

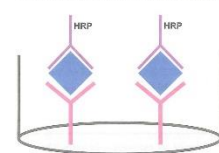
PLACA DE LA PRUEBA



3. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.

4. Lave la placa de la prueba seis (6) veces.

5. Agregue 100 µL de Mab anti-NS1 conjugado con HRP a cada pocillo de la placa de la prueba.



6. Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.

7. Lave la placa de la prueba seis (6) veces. Después del último lavado, agregue 100 µL de TMB por pocillo e incuba a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) durante 10 minutos. Detenga la reacción con 100 µL de solución de parada y realice la lectura a 450 nm (filtro de referencia entre 600 y 650 nm).

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

	Fabricante	CONTROL CAL	Calibrador
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea	CONTROL CAL DEN	Calibrador del dengue
REF	Número de catálogo	CONTROL CAL JE	Calibrador de EJ
IVD	Producto sanitario para diagnóstica <i>in vitro</i>	CONTROL CO CAL	Calibrador de puntos de corte
LOT	N.º de lote	RF	Factor reumatoide
	Límite de temperatura	SAMP ABS	Absorbente de la muestra
	Fecha de caducidad	CONJ	Conjugado
	Contenido suficiente para X pruebas	SAMP DIL	Diluyente para muestra
	Marcado CE conforme a la Directiva 98/79 CE relativa a los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>	Ag	Antígeno
	Precaución	Ag DIL	Diluyente para antígeno
	Consultar las instrucciones de uso	Ag DEN	Antígenos 1 a 4 del dengue
MW Ag	Micropocillos recubiertos de antígenos	Ag JE	Antígeno de la EJ
MW Ab	Micropocillos recubiertos de anticuerpos	WASH BUF 20 X	Tampón de lavado 20x
CONTROL +	Control positivo	SUBS TMB	Sustrato de tetrametilbenzidina
CONTROL -	Control negativo	SOLN STOP	Solución de parada
CONTROL R	Control reactivo	AVD	Reactivo de avidin tamponado

GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Valores de absorbancia altos	1. Contaminación cruzada con otras muestras.	► Repetir la prueba teniendo cuidado al lavar y pipetear.
	2. Lavado o lectura insuficiente o ineficaz.	► Comprobar la eficacia del dispositivo de lavado.
	3. La longitud de onda del filtro no es correcta.	► Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600-650 nm.
	4. Nivel de fondo alto.	► Repetir el ensayo e incluir un pocillo que solo contenga diluyente para muestra o absorbente de la muestra (es decir, un pocillo de blanco).
	5. TMB contaminada.	► Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	6. Tiempo de incubación demasiado largo o temperatura de incubación demasiado alta.	► Comprobar el tiempo y la temperatura de incubación.
	7. Dilución incorrecta del suero.	► Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta. ► Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
Valores de absorbancia bajos	1. Tiempo de incubación demasiado corto o temperatura de incubación demasiado baja.	► Asegurarse de que el tiempo y la temperatura de incubación del ensayo son correctos. ► Comprobar que la incubadora está a la temperatura correcta.
	2. Dilución o pipeteado incorrecto del suero.	► Repetir el ensayo asegurándose de usar las diluciones y los volúmenes correctos. ► Asegurarse de que los controles están bien mezclados.
	3. Longitud de onda del filtro incorrecta.	► Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si no dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600-650 nm.
	4. Solución del conjugado contaminada.	► Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ► No devolver el conjugado no utilizado al frasco.
	5. El kit ha caducado.	► Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía. ► Comprobar la fecha de caducidad del kit y no usarlo si está caducado.
	6. Lectura alta del blanco de aire.	► Investigar las causas de la alta absorbancia del fondo.
	7. Almacenamiento incorrecto del kit.	► Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	8. Los reactivos del kit no se han estabilizado a temperatura ambiente.	► Esperar suficiente tiempo a que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente antes del ensayo.
	9. Uso de reactivos incorrectos.	► Comprobar que los reactivos utilizados coinciden con los indicados en la hoja de especificaciones.
	10. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	► Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	11. Lavado insuficiente de la placa después del paso de incubación del suero (p. ej., lavado insuficiente durante el paso de lavado).	► Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
Duplicados deficientes	1. Mezcla de las muestras insuficiente.	► Mezclar los reactivos suavemente y estabilizar a temperatura ambiente.
	2. Baja precisión de la pipeta.	► Puede que haya que comprobar la calibración. ► Comprobar la técnica de pipeteado. Cambiar la punta de la pipeta para cada muestra y asegurarse de retirar el líquido sobrante del exterior de la punta.
	3. Adición de reactivos a intervalos no constantes; la adición del reactivo es demasiado lenta, se forman burbujas de aire al agregar los reactivos.	► Usar intervalos constantes durante la adición de los reactivos. ► Asegurarse de realizar todas las diluciones antes de empezar a añadir nada a la placa. ► Mejorar la técnica y la velocidad de pipeteado.
	4. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	► Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ► Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	5. Lector no calibrado o precalentado antes de la lectura de la placa.	► Comprobar la precisión del lector. ► Consultar el manual del lector para confirmar el tiempo de precalentamiento del instrumento.
	6. La óptica no está limpia.	► Limpiar suavemente la parte inferior de la placa. ► Comprobar que la fuente de luz y el detector del lector están limpios.
	7. Derrame de líquido de los pocillos.	► Repetir la prueba, teniendo cuidado de no golpear la placa ni salpicar líquido.
	8. Las muestras de suero tienen crecimiento microbiano, hemólisis o lipemia.	► No se recomienda usar muestras de suero con signos de crecimiento microbiano, hemólisis o lipemia.
	9. Los volúmenes de las pocillos son desiguales debido a la evaporación.	► Cubrir la placa con una tapa o un sellador de placas (no suministrados).
Todos los pocillos son amarillos	1. TMB contaminada.	► Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	2. Reactivos contaminados (conjugado o tampón de lavado).	► Comprobar si los reactivos presentan turbidez.
	3. Dilución incorrecta del suero.	► Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	► Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	► Dar unos golpecitos para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ► Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	6. Si es necesario reconstituir el conjugado - Conjugado reconstituido incorrectamente.	► Repetir la prueba comprobando que el conjugado se reconstituye según el método del ensayo.
Todos los pocillos son negativos	1. La prueba no se realizó correctamente. No se agregaron los reactivos correctos o no se agregaron en el orden correcto.	► Consultar el procedimiento y comprobar si hay reactivos sin usar. ► Comprobar que la solución de parada no se haya agregado antes que el conjugado o la TMB. ► Comprobar que el suero se diluyó con el diluyente para muestra correcto, p. ej., no usar absorbente de la muestra para un ensayo ELISA de tipo.
	2. Solución del conjugado contaminada.	► Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ► No devolver el conjugado no utilizado al frasco. ► Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	3. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	► Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	► Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. El tampón de lavado se ha hecho con solución de parada en lugar de tampón de lavado concentrado.	► Comprobar que el tampón de lavado se ha preparado correctamente.

Anexo 4. Inserto Panbio Dengue IgM ELISA



Prohibida su venta o distribución en Estados Unidos de América Panbio Dengue IgM Capture ELISA

Cat. No. 01PE20/01PE21

USO PREVISTO

El ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio se utiliza para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra el antígeno del dengue en suero, como ayuda para el diagnóstico en laboratorios clínicos de pacientes con síntomas clínicos indicativos de fiebre del dengue. El ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgM contra el dengue de Panbio debe utilizarse junto con otros análisis serológicos para el dengue.

INTRODUCCIÓN

El dengue es un flavivirus que se encuentra en regiones extensas de los trópicos y subtropicales. Se transmite mediante mosquitos, principalmente los de las especies *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. La infección por el virus del dengue provoca diversas manifestaciones clínicas, desde asintomáticas a una enfermedad hemorrágica letal. La fiebre del dengue clásica se caracteriza por la aparición súbita de fiebre, cefalea intensa, mialgia, artralgia y exantema. Es frecuente una evolución febril bifásica, así como insomnio y anorexia con pérdida del sentido del gusto o un sabor amargo. La fiebre hemorrágica del dengue y el síndrome de shock por dengue son complicaciones graves que a menudo se asocian a la infección por un segundo serotipo. La detección de anticuerpos IgG contra el virus del dengue mediante ELISA es un procedimiento valioso, especialmente para la identificación de sobreinfecciones, que presentan más complicaciones. Los anticuerpos IgM séricos pueden detectarse en pacientes infectados por el dengue entre los primeros tres y cinco días posteriores al comienzo de la fiebre, y generalmente persisten durante 30 a 90 días, aunque podría haber niveles detectables a los ocho meses de la infección.

PRINCIPIO

Cuando están presentes, los anticuerpos en suero de la clase IgG se unen a los anticuerpos anti-IgM humana ligados a la superficie de poliestireno de las tiras de prueba de los micropocillos. Se diluye un grupo concentrado de antígenos 1 a 4 del dengue en el volumen de trabajo adecuado con diluyente para antígeno. Los antígenos se producen usando un sistema de expresión en células de insecto y se inmunopurifican mediante un anticuerpo monoclonal específico. Se agrega un volumen igual de anticuerpo monoclonal (MAb) conjugado con HRP al antígeno diluido, lo que permite la formación de complejos de antígeno-MAb. La placa de la prueba se lava para retirar el suero residual y se agregan complejos de antígeno-MAb a la placa. Después del período de incubación, los micropocillos se lavan y se agrega un sistema de sustrato incoloro de tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno (cromógeno de TMB). La enzima hidroliza el sustrato y el cromógeno se vuelve de color azul. Después de detener la reacción con ácido, la TMB se vuelve de color amarillo. Los cambios de color indican la presencia de anticuerpos IgM contra el dengue en la muestra de la prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Nota: 01PE21 = 01PE20 x 5

1. **Micropocillos recubiertos de anticuerpos anti-IgM humana:** (12 x 8 pocillos). Los pocillos están recubiertos de anticuerpos anti-IgM humana. Listo para usar. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de secante. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
2. **Antígenos 1 a 4 del dengue (recombinantes):** un vial de tapón transparente con 150 µL (azul) de antígenos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue concentrados. Los antígenos diluidos sin usar deben desecharse. El antígeno concentrado es estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
3. **Tampón de lavado (20x):** un frasco de 60 mL de solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2-7,6) concentrada 20x con Tween 20 y conservante (Proclin™ al 0,1%). A temperaturas bajas puede producirse cristalización. Para corregir, incube a una temperatura de 37 °C hasta que desaparezca. Mezcle bien. Diluya una parte del tampón de lavado concentrado con 19 partes de agua destilada. El tampón diluido puede almacenarse durante una semana entre 2 y 25 °C.
4. **Diluyente para muestra:** dos frascos de 50 mL (rojo). Listo para usar. Solución salina tamponada con Tris (pH 7,2-7,6) con conservantes (Proclin™ al 0,1%) y aditivos. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
5. **Diluyente para antígeno:** un frasco de 50 mL (transparente). Listo para usar. Tampón fosfato con conservantes (Proclin™ al 0,1%) y genticina al 0,005%. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
6. **Trazador de anticuerpos monoclonales conjugados con HRP:** un frasco de 7 mL (amarillo). Listo para usar. Trazador de anticuerpos monoclonales conjugados con peroxidasa de rábano con conservante (Proclin™ al 0,1%) y estabilizadores de proteínas. Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
7. **Cromógeno TMB (TMB):** un frasco de 15 mL. Listo para usar. Una mezcla de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno en un tampón de citrato-ácido cítrico (pH 3,5-3,8). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
8. **Control positivo:** un vial de tapón negro con 200 µL de suero humano (contiene ácido sulfúrico al 0,1% y sulfato de genticina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
9. **Calibrador:** un vial de tapón naranja con 400 µL de suero humano (contiene ácido sulfúrico al 0,1% y sulfato de genticina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
10. **Control negativo:** un vial de tapón blanco con 200 µL de suero humano (contiene ácido sulfúrico al 0,1% y sulfato de genticina al 0,005%). Estable entre 2 y 8 °C hasta su caducidad.
11. **Solución de parada:** un frasco con tapón rojo de 15 mL. Listo para usar. Ácido fosfórico 1M. Estable entre 2 y 25 °C hasta su caducidad.

Proclin™ 300 es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

* Clasificación según la normativa (CE) n.º 1272/2008:

Identificador del producto	Nombre comercial	Antígenos 1 a 4 del dengue, Tampón de lavado, Diluyente para muestra, Diluyente para antígeno, Conjugados con HRP
	Sustancia peligrosa	Proclin 300 (5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), CAS No. 55965-84-9)
Clasificación	Corrosión o irritación cutánea Categoría2 Lesiones o irritación ocular graves Categoría2 Sensibilización cutánea Categoría1	
Pictograma de riesgo		

Palabra de advertencia	Atención
Indicación de peligro	H315: Provoca irritación cutánea H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel H319: Provoca irritación ocular grave
Consejos de prudencia	
Prevención	P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación P272: Las prendas de trabajo contaminadas no deben sacarse del lugar de trabajo P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
Respuesta	P302+P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P321: Se necesita un tratamiento específico P332+P313: En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico P333+P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico P337+P313: Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico P362: Duntarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas
Eliminación	P501: Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local, regional, nacional o internacional

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Micropipetas de precisión ajustables con puntas de pipeta desechables (capacidad 5-1000 µL)
2. Agua desionizada
3. Sistema de lavado de microplacas
4. Lector de microplacas con un filtro de 450 nm
5. Cronómetro
6. Probeta graduada
7. Matraz
8. Tubos de ensayo o placa de microtitulación para las diluciones del suero
9. Tubos o viales de vidrio o plástico para diluir el antígeno

PRECAUCIONES

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. Todas las muestras de origen humano utilizadas en la preparación de los controles han dado resultados negativos en las pruebas para los virus 1 y 2 de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el antígeno de superficie de la hepatitis B. Sin embargo, ningún método ofrece una garantía completa, y todos los controles y antígenos humanos deben manipularse como material potencialmente infeccioso. Los Centers for Disease Control and Prevention y los National Institutes of Health recomiendan manipular los agentes potencialmente infecciosos en laboratorios de contención biológica de nivel 2.
2. Esta prueba solo debe realizarse con suero. No se ha establecido el uso de sangre completa, plasma u otras matrices de muestras.
3. No se deben utilizar sueros ictericos o lipídemicos o sueros que presenten hemólisis o crecimiento microbiano.
4. No inactive los sueros con calor.
5. Todos los reactivos deben estar estabilizados a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) antes de comenzar el ensayo. Los cambios de temperatura afectan al ensayo. No saque los micropocillos de la bolsa cerrada hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).
6. Dispense los reactivos directamente de los frascos utilizando puntas de pipeta limpias. Al transferirlos pueden contaminarse.
7. Los micropocillos sin usar deben volver a sellarse inmediatamente y guardarse en presencia de un secante. Si no se lleva a cabo este paso pueden obtenerse resultados erróneos.
8. Sistema de sustrato:
 - (a) Dado que la TMB se puede contaminar con iones metálicos, no permita que el sistema de sustrato entre en contacto con superficies metálicas.
 - (b) Evite una exposición prolongada a la luz directa.
 - (c) Algunos detergentes pueden interferir con el rendimiento de la TMB.
 - (d) La TMB puede presentar un tenue color azulado, lo que no afecta a la actividad del sustrato ni a los resultados del ensayo.
9. Algunos componentes del kit contienen ácido sulfúrico, que puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar compuestos de ácidos metálicos altamente explosivos. Al desechar estos reactivos por las tuberías, hágalo vertiendo una gran cantidad de agua con el fin de evitar que la acida se acumule en las cañerías.
10. La acida sulfúrica inhibe la actividad del conjugado. Para agregar el conjugado deben utilizarse puntas de pipeta limpias, de forma que no se transfiera acida sulfúrica de otros reactivos.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La sangre extraída por venopunción debe dejarse coagular a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) y centrifugarse siguiendo el procedimiento del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Approved Standard – Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3). El suero debe separarse lo antes posible y conservarse refrigerado (2 - 8 °C) o congelado (≤ -20 °C) si no se va a analizar en el plazo de dos días. No se recomienda usar congeladores con descongelación automática para almacenar las muestras. No se recomienda emplear sueros ictericos o sueros que presenten hemólisis, lipemia o crecimiento microbiano. El CLSI proporciona recomendaciones para almacenar las muestras de sangre (Approved Standard – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Nota: compruebe que todos los reactivos se han estabilizado a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo. Si lleva a cabo el ensayo fuera de los intervalos de tiempo y temperatura proporcionados, se pueden obtener resultados incorrectos. Los ensayos que se realicen fuera de los intervalos de tiempo y temperatura establecidos deben repetirse.

Predilución del suero

1. Saque el número necesario de micropocillos de la bolsa de aluminio e insértelos en el soporte para tiras. Se necesitan cinco micropocillos para el control positivo (P), el control negativo (N) y el calibrador (CAL) por triplicado. Asegúrese de que los micropocillos que no se utilicen se vuelven a guardar en la bolsa de aluminio sellada.
 2. Usando tubos de ensayo o una placa de microtitulación adecuados, diluya el control negativo, el control positivo, el calibrador y las muestras del paciente:
 - (a) Añada 1000 µL de diluyente para muestra a 10 µL de suero. Mezcle bien.
- De manera alternativa:**
- (b) Añada 90 µL de diluyente para muestra a 10 µL de suero. Tome 20 µL del suero diluido y añada 180 µL de diluyente para muestra. Mezcle bien.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ELISA

La figura siguiente muestra un resumen del método.

(A) Antígeno

- Determine el número necesario de pocillos para la prueba. Diluya el antígeno a 1/250 usando el diluyente para antígeno. Se recomienda diluir al menos 10 µL de antígeno en 2,5 mL de diluyente para antígeno. Esta cantidad es suficiente para cinco tiras (40 pocillos). Se necesita un volumen de 0,5 mL de antígeno diluido por tira. Al añadir el antígeno al diluyente para antígeno, la solución se vuelve de un color azul pálido. Asegúrese de que el antígeno concentrado sin usar esté a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
- Retire el volumen necesario de antígeno diluido y mézclelo con un volumen igual de trazador de MAb en un frasco de cristal o en un vial de polipropileno limpio. Mezcle suavemente la solución de trazador de MAb y antígeno y déjela a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C) hasta que haga falta. Deseche el antígeno diluido que no utilice.

(B) Placa de la prueba

- Antes de que transcurran 10 minutos desde la mezcla del trazador de MAb y el antígeno diluido, pipeteo 100 µL de muestra de paciente diluida y controles en sus respectivos micropocillos de la placa de la prueba.
- Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
- Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido. (Consulte el procedimiento de lavado.)
- Mezcle la solución de trazador de MAb y antígeno antes de transferirla. Pipeteo 100 µL de complejos de antígeno-MAb del vial de antígeno a los pocillos correspondientes de la placa.
- Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
- Lave seis (6) veces con el tampón de lavado diluido (consulte el procedimiento de lavado).
- Pipeteo 100 µL de TMB en cada pocillo.
- Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C), cronometrando desde la primera adición. Se formará un color azul.
- Pipeteo 100 µL de la solución de parada en todos los pocillos en el mismo orden y tiempo que cuando se agregó la TMB. Mezcle bien. El color azul cambiará a amarillo.
- Antes de 30 minutos, lea la absorbancia de cada pocillo a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de entre 600 y 650 nm.

Nota: Si dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fije el filtro de referencia entre 600–650 nm. Si lee los micropocillos a una longitud de onda de 450 nm sin un filtro de referencia, puede obtener valores de absorbancia más elevados debido al fondo.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Un lavado eficaz para eliminar los componentes o muestras sin acoplejar es un requisito fundamental del procedimiento del ensayo ELISA.

A. Dispositivo de lavado de placas automatizado

- Aspire completamente todos los pocillos.
- Llene todos los pocillos hasta el borde (350 µL) durante el ciclo de lavado.
- Al terminar los seis (6) lavados, invierta la placa y golpee firmemente sobre papel absorbente para garantizar que se elimine todo el tampón.
- Los dispositivos de lavado de placas automatizados deben mantenerse adecuadamente con el fin de garantizar la eficacia de los lavados. Deben seguirse siempre las instrucciones de limpieza del fabricante.

B. Lavado manual

- Deseche el contenido de la placa en un contenedor apropiado.
- Llene los pocillos con tampón de lavado utilizando una botella flexible adecuada. Procure que no se formen burbujas en el tampón de lavado, ya que esto reduciría la eficacia. Deseche el tampón de lavado de los pocillos inmediatamente.
- Vuelva a llenar los pocillos con tampón de lavado y deséchelo rápidamente.
- Repita el paso (3) otras cuatro veces. Esto da un total de seis (6) lavados con tampón de lavado.
- Después del último lavado, elimine el contenido de los pocillos y golpee la placa sobre papel absorbente para garantizar que se ha eliminado todo el tampón de lavado.

CONTROL DE CALIDAD

Cada kit contiene un calibrador y controles positivos y negativos, cuyos valores aceptables se encuentran en la hoja de especificaciones que se incluye en el estuche. Los controles negativos y positivos están previstos para controlar un fallo sustancial del reactivo. El control positivo no asegura la precisión del punto de corte del ensayo. El análisis no es válido y se debe repetir si las lecturas de absorbancia de los controles o del calibrador no cumplen las especificaciones. Si el resultado del análisis no es válido, no se pueden presentar los resultados del paciente.

Los requisitos del control de calidad deben ajustarse a la normativa local o nacional (o a los requisitos de acreditación) y a los procedimientos de control de calidad normalizados de su laboratorio. Se recomienda al usuario que consulte los documentos CLSI C24-A y 42 CFR 493.1256 para obtener información acerca de los procedimientos de control de calidad adecuados.

CÁLCULOS

NOTA IMPORTANTE: El factor de calibración es específico de cada lote y figura en la hoja de datos técnicos. Consulte el valor del factor de calibración antes de comenzar los cálculos.

- Calcule la absorbancia promedio de los triplicados del calibrador y multiplique por el factor de calibración. Este es el valor del punto de corte.
- El valor índice se puede calcular dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor del punto de corte (calculado en el paso (1) anterior).

De manera alternativa:

- Las unidades Panbio se pueden calcular multiplicando el valor índice (calculado en el paso (2) anterior) por 10.

Valor índice = $\frac{\text{absorbancia de la muestra}}{\text{Valor del punto de corte}}$

Ejemplo: absorbancia de la muestra A = 0,949
Absorbancia de la muestra B = 0,070

Absorbancia media del calibrador = 0,802
Factor de calibración = 0,62
Valor del punto de corte = $0,802 \times 0,62 = 0,497$

Muestra A $(0,949/0,497) = 1,91$ de valor índice
Muestra B $(0,070/0,497) = 0,14$ de valor índice

Unidades Panbio = Valor índice X 10

Muestra A $1,91 \times 10 = 19,1$ unidades Panbio
Muestra B $0,14 \times 10 = 1,4$ unidades Panbio

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El punto de corte se ha determinado utilizando poblaciones endémicas del Sureste Asiático y América del Sur, y una población local de Queensland, Australia, con 208 muestras caracterizadas como negativas (208/409),

91 como positivas (91/409) y 110 como controles de la enfermedad (110/409). El punto de corte se determinó mediante el análisis TG-ROC (two-graph receiver operating characteristic)²³. Se seleccionó un cociente para el punto de corte de 1,0 basado en el valor F óptimo para la sensibilidad y la especificidad.

Diagnóstico de infección por dengue: el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue determina el nivel de anticuerpos IgM contra el dengue en el suero de un paciente. Un resultado positivo (> 11 Unidades Panbio) indica una primoinfección o infección secundaria activa por dengue. Si se necesita distinguir entre primoinfección e infección secundaria, se debe usar el ensayo ELISA de dengue Duo (07PE10).

INDICE	UNIDADES PANBIO	RESULTADO
<0,9	<9	Negativo
0,9 – 1,1	9 – 11	Dudoso
>1,1	>11	Positivo

RESULTADO	INTERPRETATION
Negativo	Ausencia de anticuerpos IgM detectables. El resultado no descarta la infección por dengue. Repita el análisis con otra muestra en un plazo de 7 a 14 días si hay sospecha de infección en una fase temprana. Para descartar una infección aguda, deben realizarse otras pruebas del dengue.
Dudoso	Se debe repetir el análisis de las muestras dudosas. Si las muestras siguen dando un resultado dudoso al repetir el ensayo, es necesario volver a analizarlas utilizando un método alternativo o bien obtener otra muestra.
Positivo	Presencia de anticuerpos IgM detectables. Deben realizarse otras pruebas serológicas del dengue para confirmar la infección por dengue.

Forma recomendada de comunicar los resultados obtenidos: "Los siguientes resultados se obtuvieron con el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio. Los valores obtenidos con métodos diferentes no pueden intercambiarse. La magnitud del resultado medido (por encima del valor del punto de corte) no indica la cantidad total de anticuerpos presente". El resultado debe comunicarse como positivo, negativo o dudoso y no como un valor numérico.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- El diagnóstico clínico debe interpretarse junto con los signos y síntomas clínicos del paciente. Los resultados de este kit no proporcionan por sí solos un diagnóstico concluyente. Por consiguiente, deben considerarse junto con otros síntomas y datos clínicos del paciente.
- La seroprevalencia de la población puede variar a lo largo del tiempo en las diferentes regiones geográficas. Por consiguiente, puede ser necesario ajustar el punto de corte de acuerdo con los estudios locales.
- No se debe llevar a cabo un estudio de cribado de la población general. El valor de predicción positivo depende de la probabilidad de que el virus esté presente. Solo debe hacerse la prueba a pacientes que presenten síntomas clínicos o cuando se sospeche que han estado expuestos al virus.
- Es frecuente encontrar una reacción serológica cruzada dentro del grupo de los flavivirus (es decir, entre dengue 1, 2, 3 y 4, encefalitis del valle de Murray, encefalitis japonesa, fiebre amarilla y el virus del Nilo Occidental). Antes de confirmar el diagnóstico, deben descartarse estas enfermedades.
- Es bien sabido que los anticuerpos heterófilos causan interferencias en los inmunoanálisis. Estos anticuerpos contra IgG de origen animal pueden tener reactividad cruzada con los anticuerpos del reactivo y generar un falso positivo. Antes de confirmar el diagnóstico debe descartarse esta posibilidad.
- No se han establecido las características de rendimiento para la determinación visual de los resultados.
- En este ensayo se emplean proteínas expresadas en células de insecto. Se desconoce cuál es la reactividad cruzada o la interferencia de los anticuerpos humanos contra las inmunoglobulinas de insecto con los resultados del ensayo.
- Todos los sueros que den positivo en el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio deben remitirse a un laboratorio de referencia para confirmar el diagnóstico positivo y para su registro epidemiológico.
- El ensayo ELISA de dengue Duo de Panbio (07PE10) y el ensayo ELISA de captura de IgG contra el dengue de Panbio (01PE10) son los más convenientes para la determinación de IgG. Emplea el mismo método de captura que el ensayo ELISA de IgM, por lo que tanto los anticuerpos IgM como los anticuerpos IgG se determinan usando un método y una dilución sérica comunes.

VALORES PREVISTOS

La primoinfección por dengue se caracteriza por la presencia de niveles significativos o aumentados de IgM los 3 o 5 días del comienzo de la enfermedad, que pueden mantenerse durante 3 a 5 meses. La infección secundaria se caracteriza por una elevación de los anticuerpos IgG específicos 1 o 2 días después del comienzo de la infección y, en la mayoría de los casos (> 70%) se acompaña de niveles elevados de anticuerpos IgM. En fases tempranas de la infección y en algunas sobreinfecciones, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos en los primeros siete a diez días de la infección. Si los síntomas persisten, recomendamos repetir la prueba a los pacientes entre siete días después de la primera muestra.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Como parte de un estudio interno, se analizaron con el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio 255 muestras de suero caracterizadas. Entre las muestras se incluyeron 83 muestras seronegativas endémicas, 57 muestras de pacientes con primoinfección por dengue y 115 muestras de pacientes con infección secundaria por dengue. Los resultados del ensayo ELISA de captura de anticuerpos IgM contra el dengue de Panbio se compararon con el estado del dengue de las muestras séricas para determinar la sensibilidad, la especificidad y la coincidencia del ensayo respecto al estado serológico del dengue. La tabla 1 recoge un resumen de los datos.

Tabla 1
Sensibilidad y especificidad serológica del ensayo ELISA de IgM contra el dengue de Panbio frente al estado del dengue

Estado del dengue	Ensayo ELISA de Panbio			Total
	Positivo	Dudoso*	Negativo	
Seronegativo IgM (-) mediante ELISA	0	0	83	83
Primoinfección IgM (+) mediante IH	41	1	1	43
Primoinfección IgM (+) mediante ELISA	13	0	1	14
Infección secundaria IgG (+) mediante IH	41	11	34	86
Infección secundaria IgG (+) mediante ELISA	23	0	6	29
Total	118	12	125	255

95% CI*

Sensibilidad serológica (primoinfección)	= 54/57	= 94,7%	85,4 – 98,9%
Sensibilidad serológica (infección secundaria)	= 64/115	= 55,7%	46,6 – 64,7%
Especificidad serológica (negativo)	= 83/83	= 100,0%	95,7 – 100,0%
Concordancia serológica (excluidos sueros con infección secundaria)	= 137/140	= 97,9%	93,7 – 99,6%

* Las muestras dudosas no se volvieron a analizar porque no estaban disponibles.
 * Intervalo de confianza

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del kit de ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio se determinó analizando 7 muestras, tres veces cada una, con tres lotes distintos del kit de Panbio en tres días diferentes. La precisión total intraserial, interdiaria y entre lotes se estimó mediante el análisis de la varianza (ANOVA de tipo II) y se indica en la tabla 2.

Tabla 2
Mediciones de la precisión del ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio (usando el valor índice*)

Muestra	n	Intraserial		Interdiaria		Entre lotes		Total	
		*Media	*DE CV	*DE CV	*DE CV	*DE CV			
Positivo	27	2.87	0.12 4.3%	0.05 1.7%	0.52 21.6%	0.53 18.6%			
Punto de corte	27	1.00	0.06 5.7%	0.00 0.0%	0.00 0.0%	0.05 5.3%			
Negativo	27	0.36	0.06 16.7%	0.00 0.0%	0.16 45.2%	0.15 41.0%			
#1	27	6.19	0.31 5.1%	0.12 1.9%	0.41 6.7%	0.48 7.7%			
#2	27	5.91	0.21 3.6%	0.11 1.9%	0.52 8.8%	0.49 8.3%			
#3	27	1.25	0.05 4.1%	0.00 0.0%	0.10 7.9%	0.10 7.7%			
#4	27	1.33	0.07 5.4%	0.03 1.9%	0.07 5.4%	0.10 7.2%			
#5	27	1.30	0.08 6.1%	0.00 0.0%	0.12 9.3%	0.13 9.8%			
#6	27	0.71	0.04 6.0%	0.00 0.0%	0.01 1.7%	0.04 6.0%			
#7	27	0.81	0.06 7.7%	0.00 0.0%	0.00 0.0%	0.06 7.3%			

Todos los valores están calculados a partir de valores índice (punto de corte mediante densidad óptica)
 DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación

Nota: los resultados de desviación estándar se han redondeado a dos decimales por motivos de tabulación.
 * El valor índice se calcula dividiendo la absorbancia de la muestra entre el valor del punto de corte.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizó un panel compuesto por 115 muestras procedentes de pacientes con enfermedades confirmadas distintas de la fiebre del dengue para establecer la especificidad analítica del ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio. Las muestras procedían de pacientes con enfermedades con una posible reactividad cruzada. En cada una de las muestras incluidas en el estudio se identificó el diagnóstico de la enfermedad antes de aplicar el ensayo ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio. Se observó una reactividad cruzada mínima en el análisis de muestras de malaria, virus del Nilo Occidental y factor reumatoide del panel de enfermedades. Consulte la tabla 3 para ver un resumen de los resultados.

Tabla 3
ELISA de captura de IgM contra el dengue de Panbio: análisis de reactividad cruzada

Tipo de enfermedad	Muestras totales	Resultado positivo
Virus de Epstein-Barr	10	(0/10)
Malaria	10	(1/10)
Gripe A	7	(0/7)
Gripe B	3	(0/3)
Anticuerpo antinuclear	30	(0/30)
Factor reumatoide	10	(3/10)
Hepatitis A	9	(0/9)
Leptospirosis	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Tifus de las malezas	10	(0/10)
Virus del Nilo Occidental	10	(2/10)
Total	115	(6/115)

BIBLIOGRAFÍA

- U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1999), p. 8-16. In (ed.) Richmond JY, McKinney RW. Guidelines: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Xu, H., Lohr, J. and Greiner, M. (1997). The selection of ELISA cutoff points for testing antibody to Newcastle disease by two-graph receiver operating characteristic (TG-ROC) analysis. *J. Immunol. Meth.* 208(1):61-64.
- Greiner, M., Sohr, D. and Gobel, P. (1995). A modified ROC analysis for selection of cutoff values and the definition of intermediate results in serodiagnostic tests. *J. Immunol. Meth.* 185:123-132.
- Seth, J. (1991). Standardisation and Quality Assurance. In: Principle and Practice of Immunoassay, Price, C.P. and Newman, D.J. (Eds). MacMillan, London

Date Issued : 2016. 03
 01PE20/01PE21-01-Es-2

Información de contacto del servicio de asistencia técnica

Para obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor o con los expertos en asistencia técnica:

Región	Teléfono	Dirección de correo electrónica
Europe & Middle East	+ 44 161 483 9032	EMProductsupport@alere.com
Asia Pacific	+ 61 7 3363 7711	APProductsupport@alere.com
Africa, Russia, & CIS	+ 972 8 9429 683	ARCISProductsupport@alere.com
Latin America	+ 57 2 66 18797	LAPProductsupport@alere.com

Manufactured by
STANDARD DIAGNOSTICS, INC.
 65, Boshoggi-ro, Gilsong-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea
 Tel : 82-31-899-2958 Email : Panbio@stdi.com
 www.stdi.com

Authorized Representative
MT Promedtr Consulting GmbH
 Altenhofstrasse 90 D-66386 St. Ingbert Germany
 Phone : +49 6894 681620, Fax : +49 6894 581021

PANBIO ELISA DE CAPTURA DE IgM CONTRA EL DENGUE 01PE20/01PE21

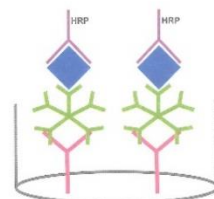
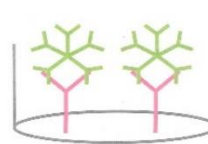
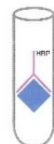
VIAL DE ANTÍGENO
Antígenos del dengue estabilizados



PLACA DE LA PRUEBA
Anticuerpos anti-IgM humana



- Agregue 10 µL de antígeno a 2,5 mL de diluyente para antígeno y mezcle. El antígeno concentrado sin usar debe conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
- Retire el volumen necesario de antígeno diluido y mézclalo con un volumen igual de trazador de MAb en un frasco de cristal o en un vial de polipropileno. DESECHE EL ANTÍGENO DILUIDO QUE NO UTILICE. DILUTED ANTIGEN.
- Agregue 100 µL de controles y muestras diluidas a la placa de la prueba.
- Incube durante 1 hora a 20-25 °C.
- Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
- Lava seis veces la placa de la prueba. Dale vueltas suavemente a la solución de antígeno-MAb para mezclarla y transfiera 100 µL por pocillo a la placa de la prueba.
- Cubra la placa e incube durante 1 hora a 37 °C ± 1 °C.
- Lave seis veces la placa de la prueba. Después del último lavado, agregue 100 µL de TMB por pocillo e incube a 20-25 °C durante 10 minutos. Detenga la reacción con 100 µL de solución de parada y realice la lectura a 450 nm (filtro de referencia de entre 600 y 650 nm).



GLOSARIO DE SÍMBOLOS

	Fabricante	CONTROL CAL	Calibrador
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea	CONTROL CAL DEN	Calibrador del dengue
REF	Número de catálogo	CONTROL CAL JE	Calibrador de EJ
IVD	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	CONTROL CO CAL	Calibrador de puntos de corte
LOT	N.º de lote	RF	Factor reumatoide
	Límite de temperatura	SAMP ABS	Absorbente de la muestra
	Fecha de caducidad	CONJ	Conjugado
	Contenido suficiente para X pruebas	SAMP DIL	Diluyente para muestra
	Marcado CE conforme a la Directiva 98/79 CE relativa a los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>	Ag	Antígeno
	Precaución	Ag DIL	Diluyente para antígeno
	Consultar las instrucciones de uso	Ag DEN	Antígenos 1 a 4 del dengue
MW Ag	Micropocillos recubiertos de antígenos	Ag JE	Antígeno de la EJ
MW Ab	Micropocillos recubiertos de anticuerpos	WASH BUF 20 X	Tampón de lavado 20x
CONTROL +	Control positivo	SUBS TMB	Sustrato de tetrametilbencidina
CONTROL -	Control negativo	SOLN STOP	Solución de parada
CONTROL R	Control reactivo	AVD	Reactivo de avidez tamponado

GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Posible causa	Investigación / Acciones
Valores de absorbancia altos	1. Contaminación cruzada con otras muestras.	▶ Repetir la prueba teniendo cuidado al lavar y pipetear.
	2. Lavado o lectura insuficiente o ineficaz.	▶ Comprobar la eficacia del dispositivo de lavado.
	3. La longitud de onda del filtro no es correcta.	▶ Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600-650 nm.
	4. Nivel de fondo alto.	▶ Repetir el ensayo e incluir un pocillo que solo contenga diluyente para muestra o absorbente de la muestra (es decir, un pocillo de blanco).
	5. TMB contaminada.	▶ Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	6. Tiempo de incubación demasiado largo o temperatura de incubación demasiado alta.	▶ Comprobar el tiempo y la temperatura de incubación.
	7. Dilución incorrecta del suero.	▶ Comprobar que la incubadora esté a la temperatura correcta. ▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
Valores de absorbancia bajos	1. Tiempo de incubación demasiado corto o temperatura de incubación demasiado baja.	▶ Asegurarse de que el tiempo y la temperatura de incubación del ensayo son correctos.
	2. Dilución o pipeteado incorrecto del suero.	▶ Comprobar que la incubadora esté a la temperatura correcta. ▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar las diluciones y los volúmenes correctos.
	3. Longitud de onda del filtro incorrecta.	▶ Asegurarse de que los controles estén bien mezclados.
	4. Solución del conjugado contaminada.	▶ Comprobar que la longitud de onda sea de 450 nm. Si se dispone de un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijar el filtro de referencia entre 600-650 nm. ▶ Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ▶ No devolver el conjugado no utilizado al frasco.
	5. El kit ha caducado.	▶ Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	6. Lectura alta del blanco de aire.	▶ Comprobar la fecha de caducidad del kit y no usarlo si está caducado.
	7. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Investigar las causas de la alta absorbancia del fondo. ▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	8. Los reactivos del kit no se han estabilizado a temperatura ambiente.	▶ Esperar suficiente tiempo a que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente antes del ensayo.
	9. Uso de reactivos incorrectos.	▶ Comprobar que los reactivos utilizados coinciden con los indicados en la hoja de especificaciones.
	10. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	11. Lavado insuficiente de la placa después del paso de incubación del suero (p. ej., lavado insuficiente durante el paso de lavado).	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
Duplicados deficientes	1. Mezcla de las muestras insuficiente.	▶ Mezclar los reactivos suavemente y estabilizar a temperatura ambiente.
	2. Baja precisión de la pipeta.	▶ Puede que haya que comprobar la calibración. ▶ Comprobar la técnica de pipeteado. Cambiar la punta de la pipeta para cada muestra y asegurarse de retirar el líquido sobrante del exterior de la punta.
	3. Adición de reactivos a intervalos no constantes; la adición del reactivo es demasiado lenta; se forman burbujas de aire al agregar los reactivos.	▶ Usar intervalos constantes durante la adición de los reactivos. ▶ Asegurarse de realizar todas las diluciones antes de empezar a añadir reactivo a la placa. ▶ Mejorar la técnica y la velocidad de pipeteado.
	4. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	▶ Dar una golpeteada para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ▶ Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	5. Lector no calibrado o precalentado antes de la lectura de la placa.	▶ Comprobar la precisión del lector. ▶ Consultar el manual del lector para confirmar el tiempo de precalentamiento del instrumento.
	6. La óptica no está limpia.	▶ Limpiar suavemente la parte inferior de la placa. ▶ Comprobar que la fuente de luz y el detector del lector están limpios.
	7. Derrame de líquido de los pocillos.	▶ Repetir la prueba, teniendo cuidado de no golpear la placa ni salpicar líquido.
	8. Las muestras de suero tienen crecimiento microbiano, hemólisis o lipemia.	▶ No se recomienda usar muestras de suero con signos de crecimiento microbiano, hemólisis o lipemia.
	9. Los volúmenes de los pocillos son desiguales debido a la evaporación.	▶ Cubrir la placa con una tapa o un sellador de placas (no suministrados).
Todos los pocillos son amarillos	1. TMB contaminada.	▶ Comprobar que la TMB sea incolora o de un tenue color azulado.
	2. Reactivos contaminados (conjugado o tampón de lavado).	▶ Comprobar si los reactivos presentan turbidez.
	3. Dilución incorrecta del suero.	▶ Repetir el ensayo asegurándose de usar la dilución de suero correcta.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada.
	5. Lavado ineficaz: el tampón de lavado se queda en los pocillos, lavado irregular, lavado inadecuado.	▶ Dar una golpeteada para eliminar el tampón de lavado después del lavado. ▶ Comprobar que el llenado y la aspiración de los pocillos es suficiente y uniforme durante el lavado.
	6. Si es necesario reconstituir el conjugado - Conjugado reconstituido incorrectamente.	▶ Repetir la prueba comprobando que el conjugado se reconstituye según el método del ensayo.
Todos los pocillos son negativos	1. La prueba no se realizó correctamente. No se agregaron los reactivos correctos o no se agregaron en el orden correcto.	▶ Consultar el procedimiento y comprobar si hay reactivos sin usar. ▶ Comprobar que la solución de parada no se haya agregado antes que el conjugado o la TMB. ▶ Comprobar que el suero se diluyó con el diluyente para muestra correcto, p. ej., no usar absorbente de la muestra para un ensayo ELISA de IgG.
	2. Solución del conjugado contaminada.	▶ Dispensar directamente el conjugado del frasco usando una punta de pipeta limpia; evitar transferir el conjugado a otro frasco, si es posible. ▶ No devolver el conjugado no utilizado al frasco.
	3. Lavado excesivo de la placa (p. ej., inclusión de un paso largo de inmersión).	▶ Comprobar que todas las pipetas y sondas utilizadas para dispensar el conjugado están limpias y no contienen suero, detergente o lejía.
	4. Almacenamiento incorrecto del kit.	▶ Repetir el ensayo usando el procedimiento de lavado recomendado.
	5. El tampón de lavado se ha hecho con solución de parada en lugar de tampón de lavado concentrado.	▶ Comprobar que el kit está almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C, que la placa está sellada en la bolsa de aluminio y que la bolsita de secante es azul o morada. ▶ Comprobar que el tampón de lavado se ha preparado correctamente.

Anexo 5. Inserto Prueba rápida de Dengue en cassette (sangre entera/Suero/Plasma)

Prueba Rápida de Dengue en Cassette (Sangre entera/Suero/Plasma)

Ficha Técnica

Un examen rápido para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG e IgM) al virus del Dengue en Sangre Total, Suero o Plasma.

Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

[USO INDICADO]

El Prueba Rápida de Dengue en Cassette (Sangre Total/Suero/Plasma) es un inmunocromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos de IgG e IgM del virus del Dengue en sangre total, suero o plasma humano. Como ayuda en el diagnóstico de infecciones primarias y secundarias de Dengue.

[RESUMEN]

El Dengue es un "arbovirus", transmitido por los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Se encuentra ampliamente distribuido por todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo. La infección clásica del Dengue se caracteriza por una súbita fiebre, fuerte dolor de cabeza, malestar, náusea y espaldillo. La infección primaria de Dengue provoca el incremento de anticuerpos IgM al nivel detectable entre 3 y 5 días después del comienzo de la fiebre. Los anticuerpos de IgM generalmente persisten entre 30 y 90 días. La mayoría de pacientes de las regiones endémicas tienen infecciones secundarias, resultando en altos niveles de anticuerpos de IgG previos a síndromes sintomáticos. Por lo tanto, la detección de anticuerpos específicos de anti-Dengue IgM e IgG puede ayudar a distinguir entre infecciones primarias y secundarias.

El Prueba Rápida de Dengue en Cassette (Sangre Total/Suero/Plasma) es un examen rápido que utiliza una combinación de partículas coloreadas cubiertas del antígeno del Dengue para la detección de anticuerpos de Dengue IgG e IgM en Sangre Total, Suero o Plasma Humano.

[PRINCIPIO]

El Prueba Rápida de Dengue en Cassette (Sangre Total/Suero/Plasma) es un inmunotayo de base de membrana para la detección cualitativa de anticuerpos de Dengue en sangre total, suero o plasma. Está formada por dos componentes, un componente IgG y un componente IgM. En el componente IgG, el antígeno es cubierto por IgG anti-humano. Durante el examen, la muestra reacciona con las partículas cubiertas por el antígeno en las líneas de examen de Dengue. La muestra migrará hacia arriba la membrana cromatográficamente por acción capilar y reaccionará con el IgG anti-humano en la región de examen. Si la muestra contiene anticuerpos IgG de Dengue, una línea de color aparecerá en la región 1. En el componente IgM, se cubre la zona de la región 2 del examen con anti-IgM. Durante el examen las muestras reaccionan con el IgM anti-humano. Los anticuerpos de Dengue, si se encuentran presentes en las muestras, reaccionan con el IgM anti-humano en la región de examen. Si la muestra contiene anticuerpos de Dengue, una línea de color aparecerá en la zona de la región 2. Si la muestra no contiene anticuerpos de Dengue, ninguna línea de color aparecerá en las regiones, indicando un resultado negativo. Como un control de procedimiento, una línea de color siempre aparecerá de rojo a azul en la región de control, indicando que un volumen apropiado de muestra se ha añadido y que la reacción de la membrana se ha producido.

[REACTIVOS]

El cassette del examen contiene partículas del antígeno conjugado coloidal oro del Dengue y cubiertas de anti-humano IgM e IgG en la membrana.

[PRECAUCIONES]

- Para Diagnóstico profesional in vitro únicamente. No usar la prueba después de la fecha de expiración.
- La prueba debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso.
- No coma, beba o fume en el área donde se almacena o los kits son manipulados.
- Maneje las espinas como si estuvieran agudas e infectadas. Observe las precauciones estándar contra cualquier otro microorganismo durante la prueba y siga las precauciones estándar para su uso correcto de las espinas.
- Use vestimenta protectora como mascarilla de laboratorio, guantes descartables, protección para los ojos mientras los espinas son examinadas.
- La humedad y temperatura pueden afectar los resultados adversamente.

[ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD]

Almacene como viene empaquetado en el ambiente sellado ya sea a temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C). El dispositivo de cassette de la prueba es estable hasta su fecha de expiración impresa en el sobre sellado. No utilice la prueba después de la fecha de expiración.

[OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA]

- El Prueba Rápida de Dengue en Cassette (Sangre Total/Suero/Plasma) puede utilizarse usando sangre total (de venopunción o punción de dedo), suero o plasma.
- Para obtener las muestras de sangre total por punción de dedo:
 - Lave la mano de paciente con jabón y agua tibia o limpie con un apósito de algodón con alcohol. Deje secar.
 - Masaje la mano sin tocar el sitio de punción (rotando hacia abajo con dirección a las puntas de los dedos) antes o después.
 - Puncione la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera muestra de sangre.
 - Suavemente masajee la mano desde la muñeca hacia la palma y hacia el dorso estregido de la palma que se forme una gota redonda de sangre en el sitio que se puncionó.
 - Añada la muestra de Sangre Total de la yema del dedo a la alícuota del examen utilizando un gotero, una jeringa o pipeta de 10 µL. El primer gota se provee con el examen dispensa aproximadamente 10 µL en la gota aún cuando se hubiera aspirado una cantidad mayor de sangre en el gotero.

- Separe el suero o el plasma de la sangre sin poner como sea posible para evitar hemólisis. Usualmente se debe esperar 10 minutos para que se separe el suero.
- La prueba se debe realizar inmediatamente después de la recolección. No deje las muestras a temperatura ambiente por largos períodos. Muestras de suero y plasma pueden ser almacenadas de 2-3°C hasta 3 días. Para almacenamientos más prolongados, las muestras deben ser mantenidas por debajo de -20°C hasta por 10 días. El primer gota se provee con el examen dispensa aproximadamente 10 µL en la gota aún cuando se hubiera aspirado una cantidad mayor de sangre en el gotero.

- Si las muestras han sido enviadas deben cumplir con las regulaciones locales de empaque y envío de transporte de agentes etiológicos.

[MATERIALES]

Materiales Suministrados

- Cassettes
- Cuentagotas
- Buffer
- Ficha técnica
- Contenedor para la recolección de la muestra
- Materiales Requeridos no Suministrados
- Pipeta
- Lancetas (para punción de dedo de sangre total únicamente)
- Cerillitas
- Cronómetro

[DIRECCIONES PARA SU USO]

Deje que la placa, la muestra, buffer y/o los controles alcancen una temperatura ambiente estable (15-30°C) antes de la prueba.

- Lleve la bolsa a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el cassette de la prueba de la bolsa sellada y utilícela dentro de la hora.
- Cóloque el cassette de la prueba en una superficie limpia y nivelada.

Para muestras de suero o plasma: Use un gotero, mantenga el gotero verticalmente, vacíe la muestra hasta la línea de llenado (aproximadamente 5 µL), y transfiera la muestra al pocillo de la muestra del cassette de la prueba, luego añada 1 gota del buffer (aproximadamente 40 µL) y empiece el timer.

Para muestras de Sangre entera (venopunción/punción en el dedo): Use un gotero, mantenga el gotero verticalmente, coloque la muestra por encima de 1 cm de la línea de llenado y transfiera 1 gota de la sangre entera (aproximadamente 10 µL) al pocillo de la muestra del cassette de la prueba, luego añada 1 gota del buffer (aproximadamente 40 µL) y empiece el timer.

Para usar con una micropipeta: pipeteo y distribuya 10 µL de la sangre entera al pocillo de la muestra del cassette de la prueba, luego añada 1 gota del buffer (aproximadamente 40 µL) y empiece el timer.

- Espera a que aparezca la línea(s) coloreada. El resultado debe leerse a los 20 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.

Para interpretar los resultados, consulte la ilustración anterior.

POSITIVO IgG e IgM: Aparecerán tres líneas. Una línea coloreada debe estar en la región de la línea de control (C), y dos líneas coloreadas deben aparecer en la línea de la región del test IgG y la línea de la región del test IgM. Las intensidades del color no tienen que estar parejas. El resultado es positivo para anticuerpos IgG e IgM y es indicativo de una infección secundaria del Dengue.

IgG POSITIVO: Dos líneas aparecerán. Una línea coloreada debe estar en la línea de la región de control (C), y una línea coloreada aparecerá en la línea de la región del test IgG. El resultado es positivo para los anticuerpos del virus específico IgG del Dengue y es indicativo de una infección primaria del Dengue.

IgM POSITIVO: Dos líneas aparecerán. Una línea coloreada debe estar en la línea de la región de control (C), y una línea coloreada aparecerá en la línea de la región del test IgM. El resultado es positivo para los anticuerpos del virus específico IgM del Dengue y es indicativo de una infección primaria del Dengue.

NOVA: La intensidad del color en la región(s) de la línea del test IgG y/o IgM variará dependiendo de la concentración de los anticuerpos del Dengue en la muestra. Por lo tanto, cualquier mayor del color en la línea de la región del test IgG y/o IgM debe ser considerado positivo.

NEGATIVO: Una línea coloreada debe estar en la región de la línea de control (C). No aparecerán líneas en la región del test de la línea del test IgG o IgM.

INVALIDO: La línea de control fallará en aparecer. La insuficiencia del volumen del buffer o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de falla en la línea de control. Revise el procedimiento y realice con un nuevo cassette de prueba. Si el problema persiste, discontinúe utilizando el kit de la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

[CONTROL DE CALIDAD]

Una línea de color control de rojo a azul en la zona de control de la región (C), confirmando que se ha utilizado suficiente volumen de buffer y que se ha producido una adecuada reacción en la membrana. Estándares positivos (MAC-ELISA) indican que el 30% de los pacientes de Dengue controlados positivos y negativos para ser usados con la prueba como una buena práctica de laboratorio y para verificar un buen rendimiento de ella.

[LIMITACIONES]

- El Prueba Rápida de Dengue en Cassette (Sangre Total/Suero/Plasma) es únicamente para uso diagnóstico in vitro. La prueba se debe utilizar para la detección de anticuerpos Dengue en muestras de sangre total, suero o plasma únicamente. Ni los valores cuantitativos ni el incremento en la tasa porcentual de anticuerpos Dengue se pueden determinar a través de esta prueba cualitativa.
- El Prueba Rápida de Dengue en Cassette (Sangre Total/Suero/Plasma) solamente indica la presencia de anticuerpos Dengue en la muestra y no debe ser utilizado como único criterio para el diagnóstico de infección Dengue.
- Al comienzo de la fiebre, las concentraciones de anti-Dengue IgM pueden encontrarse por debajo de un nivel detectable. En la infección primaria, el anticuerpo de captura IgM de un ensayo in vitro puede ser detectado antes que el anticuerpo de captura IgG de un ensayo in vitro. Estudios de Dengue examinados exhibieron niveles detectables de anticuerpos IgM alrededor del quinto día después de haber sido infectados, y el 93% de los pacientes examinados alrededor del décimo día. Se recomendó que los pacientes sean examinados durante este período de tiempo. Para la infección secundaria, una alta reacción de anti-Dengue IgM y una reacción menor alta de IgG que es altamente reactiva a "arbovirus", caracterizan los anticuerpos. La sensibilidad IgM puede ser encontrada y la reacción cruzada en la zona de la región IgG puede aparecer.
- La reacción cruzada serológica a través del grupo "arbovirus" (Dengue 1, 2, 3 & 4, Encefalitis de San Luis, Virus del Oeste del Niño, Epistaxis Japonesa y Virus de Fiebre Amarilla) es común. Los resultados positivos deben ser confirmados por otros métodos.
- La continua presencia o ausencia de anticuerpos no puede usarse para determinar el éxito o fracaso de la terapia.

7. Los resultados de pacientes inmune supresores deben ser interpretados con cautela.

8. Como todas las pruebas de diagnóstico, los resultados deben ser interpretados junto con la información clínica disponible y evaluado por el médico.

9. Si la prueba resulta negativa y los síntomas clínicos persisten, las pruebas adicionales deben realizarse utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye ninguna posibilidad de infección por Dengue.

[VALORES ESPERADOS]

La infección Primaria del Dengue es caracterizada por la presencia de anticuerpos IgM 3-5 días después del inicio de la infección. La infección Secundaria del Dengue es caracterizada por la elevación del específico IgG del Dengue. En la mayoría de los casos, este es acompañado por niveles elevados de IgM.

La Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) ha sido comparada con una Prueba de ELISA del Dengue de una marca comercial importante, mostrando una sensibilidad del 83.3% para la infección primaria IgM y >99.0% para la infección secundaria IgG.

[CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS]

Especificidad y Exactitud

La Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) ha sido evaluada con muestras obtenidas no una población de personas sintomáticas y asintomáticas. Los resultados fueron confirmados por una Prueba comercial importante de ELISA del Dengue. Los resultados muestran que la sensibilidad relativa en general para la infección primaria y secundaria de la Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) es 95.7%, y la especificidad relativa es >91.0%, y la precisión relativa es 91.3%.

Infección Primaria para Prueba Rápida del Dengue en Cassette

Método	ELISA		
	Resultado	Positivo	negativo
Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma)	Positivo	IgM 15	0
		IgG 0	0
	Negativo	0	0
Relativa Sensibilidad		83.3%	>99.0%

Infección Secundaria para Prueba Rápida del Dengue en Cassette

Método	ELISA		
	Resultado	Positivo	negativo
Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma)	Positivo	IgM 17	0
		IgG 15	52
	Negativo	0	0
Relativa Sensibilidad		71.2%	>99.0%

Non-Dengue Infection for IgM/IgG test results

Método	ELISA		
	Resultado	Positivo	negativo
Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma)	Positivo	IgM 0	0
		IgG 0	0
	Negativo	0	338
Relativa Especificidad		0%	>99.0%

Relative Sensibilidad: (19-52) (18+5) =91.7% (95%CI: 88.0%-94.1%);
Relative Especificidad: (348-338) (95%CI: 99.1%-100.0%);
Precisión: (15-52+338) (18-52+338) =96.3% (95%CI: 97.9%-98.9%); *Intervalo de confianza del 95%

[Precisión]

Intra-Ensayo: La precisión del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) se evaluó utilizando 15 muestras repetidas de cuatro muestras: una negativa, una positiva IgG, una positiva IgM y una dual positiva IgG/IgM. Las muestras fueron correctamente identificadas >95% del tiempo.

Inter-Ensayo: La precisión del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) se evaluó utilizando 15 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras: una negativa, una positiva IgG, una positiva IgM y una dual positiva IgG/IgM. Tres lotes diferentes de la Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) ha sido evaluada utilizando estas muestras. Las muestras fueron correctamente identificadas >95% del tiempo.

[Reactividad cruzada]

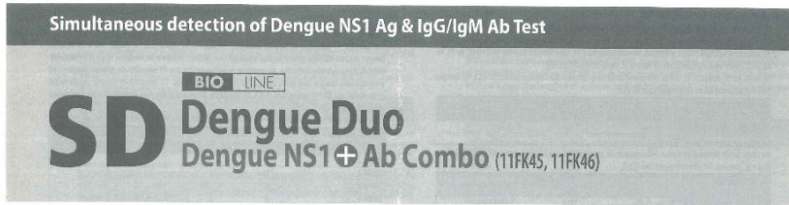
La Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) ha sido ajustada con muestras positivas de HAMA, RF, HSAg, HSAh, HSAz, HSAAb, HSAcA, HSAcB, HSAcC, HSAcD, HSAcE, HSAcF, HSAcG, HSAcH, HSAcI, HSAcJ, HSAcK, HSAcL, HSAcM, HSAcN, HSAcO, HSAcP, HSAcQ, HSAcR, HSAcS, HSAcT, HSAcU, HSAcV, HSAcW, HSAcX, HSAcY, HSAcZ, HSAcAA, HSAcAB, HSAcAC, HSAcAD, HSAcAE, HSAcAF, HSAcAG, HSAcAH, HSAcAI, HSAcAJ, HSAcAK, HSAcAL, HSAcAM, HSAcAN, HSAcAO, HSAcAP, HSAcAQ, HSAcAR, HSAcAS, HSAcAT, HSAcAU, HSAcAV, HSAcAW, HSAcAX, HSAcAY, HSAcAZ, HSAcBA, HSAcBB, HSAcBC, HSAcBD, HSAcBE, HSAcBF, HSAcBG, HSAcBH, HSAcBI, HSAcBJ, HSAcBK, HSAcBL, HSAcBM, HSAcBN, HSAcBO, HSAcBP, HSAcBQ, HSAcBR, HSAcBS, HSAcBT, HSAcBU, HSAcBV, HSAcBW, HSAcBX, HSAcBY, HSAcBZ, HSAcCA, HSAcCB, HSAcCC, HSAcCD, HSAcCE, HSAcCF, HSAcCG, HSAcCH, HSAcCI, HSAcCJ, HSAcCK, HSAcCL, HSAcCM, HSAcCN, HSAcCO, HSAcCP, HSAcCQ, HSAcCR, HSAcCS, HSAcCT, HSAcCU, HSAcCV, HSAcCW, HSAcCX, HSAcCY, HSAcCZ, HSAcDA, HSAcDB, HSAcDC, HSAcDD, HSAcDE, HSAcDF, HSAcDG, HSAcDH, HSAcDI, HSAcDJ, HSAcDK, HSAcDL, HSAcDM, HSAcDN, HSAcDO, HSAcDP, HSAcDQ, HSAcDR, HSAcDS, HSAcDT, HSAcDU, HSAcDV, HSAcDW, HSAcDX, HSAcDY, HSAcDZ, HSAcEA, HSAcEB, HSAcEC, HSAcED, HSAcEE, HSAcEF, HSAcEG, HSAcEH, HSAcEI, HSAcEJ, HSAcEK, HSAcEL, HSAcEM, HSAcEN, HSAcEO, HSAcEP, HSAcEQ, HSAcER, HSAcES, HSAcET, HSAcEU, HSAcEV, HSAcEW, HSAcEX, HSAcEY, HSAcEZ, HSAcFA, HSAcFB, HSAcFC, HSAcFD, HSAcFE, HSAcFF, HSAcFG, HSAcFH, HSAcFI, HSAcFJ, HSAcFK, HSAcFL, HSAcFM, HSAcFN, HSAcFO, HSAcFP, HSAcFQ, HSAcFR, HSAcFS, HSAcFT, HSAcFU, HSAcFV, HSAcFW, HSAcFX, HSAcFY, HSAcFZ, HSAcGA, HSAcGB, HSAcGC, HSAcGD, HSAcGE, HSAcGF, HSAcGG, HSAcGH, HSAcGI, HSAcGJ, HSAcGK, HSAcGL, HSAcGM, HSAcGN, HSAcGO, HSAcGP, HSAcGQ, HSAcGR, HSAcGS, HSAcGT, HSAcGU, HSAcGV, HSAcGW, HSAcGX, HSAcGY, HSAcGZ, HSAcHA, HSAcHB, HSAcHC, HSAcHD, HSAcHE, HSAcHF, HSAcHG, HSAcHH, HSAcHI, HSAcHJ, HSAcHK, HSAcHL, HSAcHM, HSAcHN, HSAcHO, HSAcHP, HSAcHQ, HSAcHR, HSAcHS, HSAcHT, HSAcHU, HSAcHV, HSAcHW, HSAcHX, HSAcHY, HSAcHZ, HSAcIA, HSAcIB, HSAcIC, HSAcID, HSAcIE, HSAcIF, HSAcIG, HSAcIH, HSAcIJ, HSAcIK, HSAcIL, HSAcIM, HSAcIN, HSAcIO, HSAcIP, HSAcIQ, HSAcIR, HSAcIS, HSAcIT, HSAcIU, HSAcIV, HSAcIW, HSAcIX, HSAcIY, HSAcIZ, HSAcJA, HSAcJB, HSAcJC, HSAcJD, HSAcJE, HSAcJF, HSAcJG, HSAcJH, HSAcJI, HSAcJJ, HSAcJK, HSAcJL, HSAcJM, HSAcJN, HSAcJO, HSAcJP, HSAcJQ, HSAcJR, HSAcJS, HSAcJT, HSAcJU, HSAcJV, HSAcJW, HSAcJX, HSAcJY, HSAcJZ, HSAcKA, HSAcKB, HSAcKC, HSAcKD, HSAcKE, HSAcKF, HSAcKG, HSAcKH, HSAcKI, HSAcKJ, HSAcKK, HSAcKL, HSAcKM, HSAcKN, HSAcKO, HSAcKP, HSAcKQ, HSAcKR, HSAcKS, HSAcKT, HSAcKU, HSAcKV, HSAcKW, HSAcKX, HSAcKY, HSAcKZ, HSAcLA, HSAcLB, HSAcLC, HSAcLD, HSAcLE, HSAcLF, HSAcLG, HSAcLH, HSAcLI, HSAcLJ, HSAcLK, HSAcLL, HSAcLM, HSAcLN, HSAcLO, HSAcLP, HSAcLQ, HSAcLR, HSAcLS, HSAcLT, HSAcLU, HSAcLV, HSAcLW, HSAcLX, HSAcLY, HSAcLZ, HSAcMA, HSAcMB, HSAcMC, HSAcMD, HSAcME, HSAcMF, HSAcMG, HSAcMH, HSAcMI, HSAcMJ, HSAcMK, HSAcML, HSAcMM, HSAcMN, HSAcMO, HSAcMP, HSAcMQ, HSAcMR, HSAcMS, HSAcMT, HSAcMU, HSAcMV, HSAcMW, HSAcMX, HSAcMY, HSAcMZ, HSAcNA, HSAcNB, HSAcNC, HSAcND, HSAcNE, HSAcNF, HSAcNG, HSAcNH, HSAcNI, HSAcNJ, HSAcNK, HSAcNL, HSAcNM, HSAcNN, HSAcNO, HSAcNP, HSAcNQ, HSAcNR, HSAcNS, HSAcNT, HSAcNU, HSAcNV, HSAcNW, HSAcNX, HSAcNY, HSAcNZ, HSAcOA, HSAcOB, HSAcOC, HSAcOD, HSAcOE, HSAcOF, HSAcOG, HSAcOH, HSAcOI, HSAcOJ, HSAcOK, HSAcOL, HSAcOM, HSAcON, HSAcOO, HSAcOP, HSAcOQ, HSAcOR, HSAcOS, HSAcOT, HSAcOU, HSAcOV, HSAcOW, HSAcOX, HSAcOY, HSAcOZ, HSAcPA, HSAcPB, HSAcPC, HSAcPD, HSAcPE, HSAcPF, HSAcPG, HSAcPH, HSAcPI, HSAcPJ, HSAcPK, HSAcPL, HSAcPM, HSAcPN, HSAcPO, HSAcPP, HSAcPQ, HSAcPR, HSAcPS, HSAcPT, HSAcPU, HSAcPV, HSAcPW, HSAcPX, HSAcPY, HSAcPZ, HSAcQA, HSAcQB, HSAcQC, HSAcQD, HSAcQE, HSAcQF, HSAcQG, HSAcQH, HSAcQI, HSAcQJ, HSAcQK, HSAcQL, HSAcQM, HSAcQN, HSAcQO, HSAcQP, HSAcQQ, HSAcQR, HSAcQS, HSAcQT, HSAcQU, HSAcQV, HSAcQW, HSAcQX, HSAcQY, HSAcQZ, HSAcRA, HSAcRB, HSAcRC, HSAcRD, HSAcRE, HSAcRF, HSAcRG, HSAcRH, HSAcRI, HSAcRJ, HSAcRK, HSAcRL, HSAcRM, HSAcRN, HSAcRO, HSAcRP, HSAcRQ, HSAcRR, HSAcRS, HSAcRT, HSAcRU, HSAcRV, HSAcRW, HSAcRX, HSAcRY, HSAcRZ, HSAcSA, HSAcSB, HSAcSC, HSAcSD, HSAcSE, HSAcSF, HSAcSG, HSAcSH, HSAcSI, HSAcSJ, HSAcSK, HSAcSL, HSAcSM, HSAcSN, HSAcSO, HSAcSP, HSAcSQ, HSAcSR, HSAcSS, HSAcST, HSAcSU, HSAcSV, HSAcSW, HSAcSX, HSAcSY, HSAcSZ, HSAcTA, HSAcTB, HSAcTC, HSAcTD, HSAcTE, HSAcTF, HSAcTG, HSAcTH, HSAcTI, HSAcTJ, HSAcTK, HSAcTL, HSAcTM, HSAcTN, HSAcTO, HSAcTP, HSAcTQ, HSAcTR, HSAcTS, HSAcTT, HSAcTU, HSAcTV, HSAcTW, HSAcTX, HSAcTY, HSAcTZ, HSAcUA, HSAcUB, HSAcUC, HSAcUD, HSAcUE, HSAcUF, HSAcUG, HSAcUH, HSAcUI, HSAcUJ, HSAcUK, HSAcUL, HSAcUM, HSAcUN, HSAcUO, HSAcUP, HSAcUQ, HSAcUR, HSAcUS, HSAcUT, HSAcUU, HSAcUV, HSAcUW, HSAcUX, HSAcUY, HSAcUZ, HSAcVA, HSAcVB, HSAcVC, HSAcVD, HSAcVE, HSAcVF, HSAcVG, HSAcVH, HSAcVI, HSAcVJ, HSAcVK, HSAcVL, HSAcVM, HSAcVN, HSAcVO, HSAcVP, HSAcVQ, HSAcVR, HSAcVS, HSAcVT, HSAcVU, HSAcVV, HSAcVW, HSAcVX, HSAcVY, HSAcVZ, HSAcWA, HSAcWB, HSAcWC, HSAcWD, HSAcWE, HSAcWF, HSAcWG, HSAcWH, HSAcWI, HSAcWJ, HSAcWK, HSAcWL, HSAcWM, HSAcWN, HSAcWO, HSAcWP, HSAcWQ, HSAcWR, HSAcWS, HSAcWT, HSAcWU, HSAcWV, HSAcWW, HSAcWX, HSAcWY, HSAcWZ, HSAcXA, HSAcXB, HSAcXC, HSAcXD, HSAcXE, HSAcXF, HSAcXG, HSAcXH, HSAcXI, HSAcXJ, HSAcXK, HSAcXL, HSAcXM, HSAcXN, HSAcXO, HSAcXP, HSAcXQ, HSAcXR, HSAcXS, HSAcXT, HSAcXU, HSAcXV, HSAcXW, HSAcXX, HSAcXY, HSAcXZ, HSAcYA, HSAcYB, HSAcYC, HSAcYD, HSAcYE, HSAcYF, HSAcYG, HSAcYH, HSAcYI, HSAcYJ, HSAcYK, HSAcYL, HSAcYM, HSAcYN, HSAcYO, HSAcYP, HSAcYQ, HSAcYR, HSAcYS, HSAcYT, HSAcYU, HSAcYV, HSAcYW, HSAcYX, HSAcYY, HSAcYZ, HSAcZA, HSAcZB, HSAcZC, HSAcZD, HSAcZE, HSAcZF, HSAcZG, HSAcZH, HSAcZI, HSAcZJ, HSAcZK, HSAcZL, HSAcZM, HSAcZN, HSAcZO, HSAcZP, HSAcZQ, HSAcZR, HSAcZS, HSAcZT, HSAcZU, HSAcZV, HSAcZW, HSAcZX, HSAcZY, HSAcZZ

La precisión Dengue-Ensayo ha sido determinada utilizando 15 muestras repetidas de cuatro muestras: una negativa, una positiva IgG, una positiva IgM y una dual positiva IgG/IgM. Las muestras fueron correctamente identificadas >98% del tiempo.

La precisión Dengue-Ensayo ha sido determinada por 15 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras: una negativa, una positiva IgG, una positiva IgM y una dual positiva IgG/IgM. Tres lotes diferentes de la Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) ha sido evaluada utilizando estas muestras. Las muestras fueron correctamente identificadas >95% del tiempo.

Reactividad cruzada: La Prueba Rápida del Dengue en Cassette (Sangre Entera/Suero/Plasma) ha sido ajustada con muestras positivas de HAMA, RF, HSAg, HSAh, HSAz, HSAAb, HSAcA, HSAcB, HSAcC, HSAcD, HSAcE, HSAcF, HSAcG, HSAcH, HSAcI, HSAcJ, HSAcK, HSAcL, HSAcM, HSAcN, HSAcO, HSAcP, HSAcQ, HSAcR, HSAcS, HSAcT, HSAcU, HSAcV, HSAcW, HSAcX, HSAcY, HSAcZ, HSAcAA, HSAcAB, HSAcAC, HSAcAD, HSAcAE, HSAcAF, HSAcAG, HSAcAH, HSAcAI, HSAcAJ, HSAcAK, HSAcAL, HSAcAM, HSAcAN, HSAcAO, HSAcAP, HSAcAQ, HSAcAR, HSAcAS, HSAcAT, HSAcAU, HSAcAV, HSAcAW, HSAcAX, HSAcAY, HSAcAZ, HSAcBA, HSAcBB, HSAcBC, HSAcBD, HSAcBE, HSAcBF, HSAcBG, HSAcBH, HSAcBI, HSAcBJ, HSAcBK, HSAcBL, HSAcBM, HSAcBN, HSAcBO, HSAcBP, HSAcBQ, HSAcBR, HSAcBS, HSAcBT, HSAcBU, HSAcBV, HSAcBW, HSAcBX, HSAcBY, HSAcBZ, HSAcCA, HSAcCB, HSAcCC, HSAcCD, HSAcCE, HSAcCF, HSAcCG, HSAcCH, HSAcCI, HSAcCJ, HSAcCK, HSAcCL, HSAcCM, HSAcCN, HSAcCO, HSAcCP, HSAcCQ, HSAcCR, HSAcCS, HSAcCT, HSAcCU, HSAcCV, HSAcCW, HSAcCX, HSAcCY, HSAcCZ, HSAcDA, HSAcDB, HSAcDC, HSAcDD, HSAcDE, HSAcDF, HSAcDG, HSAcDH, HSAcDI, HSAcDJ, HSAcDK, HSAcDL, HSAcDM, HSAcDN, HSAcDO, HSAcDP, HSAcDQ, HSAcDR, HSAcDS, HSAcDT, HSAcDU, HSAcDV, HSAcDW, HSAcDX, HSAcDY, HSAcDZ, HSAcEA, HSAcEB, HSAcEC, HSAcED, HSAcEE, HSAcEF, HSAcEG, HSAcEH, HSAcEI, HSAcEJ, HSAcEK, HSAcEL, HSAcEM, HSAcEN, HSAcEO, HSAcEP, HSAcEQ, HSAcER, HSAcES, HSAcET, HSAcEU, HSAcEV, HSAcEW, HSAcEX, HSAcEY, HSAcEZ, HSAcFA, HSAcFB, HSAcFC, HSAcFD, HSAcFE, HSAcFF, HSAcFG, HSAcFH, HSAcFI, HSAcFJ, HSAcFK, HSAcFL, HSAcFM, HSAcFN, HSAcFO, HSAcFP, HSAcFQ, HSAcFR, HSAcFS, HSAcFT, HSAcFU, HSAcFV, HSAcFW, HSAcFX, HSAcFY, HSAcFZ, HSAcGA, HSAcGB, HSAcGC, HSAcGD, HSAcGE, HSAcGF, HSAcGG, HSAcGH, HSAcGI, HSAcGJ, HSAcGK, HSAcGL, HSAcGM, HSAcGN, HSAcGO, HSAcGP, HSAcGQ, HSAcGR, HSAcGS, HSAcGT, HSAcGU, HSAcGV, HSAcGW, HSAcGX, HSAcGY, HSAcGZ, HSAcHA, HSAcHB, HSAcHC, HSAcHD, HSAcHE, HSAcHF, HSAcHG, HSAcHH, HSAcHI, HSAcHJ, HSAcHK, HSAcHL, HSAcHM, HSAcHN, HSAcHO, HSAcHP, HSAcHQ, HSAcHR, HSAcHS, HSAcHT, HSAcHU, HSAcHV, HSAcHW, HSAcHX, HSAcHY, HSAcHZ, HSAcIA, HSAcIB, HSAcIC, HSAcID, HSAcIE, HSAcIF, HSAcIG, HSAcIH, HSAcIJ, HSAcIK, HSAcIL, HSAcIM, HSAcIN, H

Anexo 6. SD Dengue Duo, Dengue NS1 + Ab Combo (11fk45, 11fk46)



Détect de détection simultanée de l'antigène NS1 et des anticorps IgG et IgM de la dengue
Detección simultánea de la prueba Dengue NS1 Ag e IgG/IgM Ab
Teste de deteção simultânea de Dengue NS1 Ag e IgG/IgM Ab

English

About the test

(Introduction) Dengue viruses, transmitted by *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes, are widely distributed throughout the tropical and subtropical areas of the world. Dengue is an important arthropod-borne viral disease due to its high morbidity and mortality in humans. There are four known distinct serotypes: dengue virus 1, 2, 3 and 4. In children, infection is often sub-clinical or causes a self-limited febrile disease. However, if the patient is infected with a different serotype, risk of a more severe disease increases, such as dengue haemorrhagic fever or dengue shock syndrome. NS1 antigen is a highly conserved glycoprotein that is present at high concentrations in the sera of dengue-infected patients, during the early clinical phase of the disease. NS1 antigen is not in specimens from primary or secondary dengue-infected patients between 1 and 9 days after onset of fever. NS1 is usually detectable until 5 to 10 days after the onset of illness in cases of primary dengue infection and until 4 to 5 days after onset of illness in secondary infections. In primary infections, IgG appears by the 14th day and persists for life. In secondary infections, IgG levels rise 1-2 days after the onset of symptoms and an IgM response is induced 20 days after infection.

(Principle) The SD BIOLINE Dengue Duo Rapid Test contains *in vitro* immunochromatographic assays for analysis of dengue infection in human serum, plasma or whole blood (left side; Dengue NS1 Ag assay, right side; Dengue IgG/IgM assay). The Dengue NS1 antigen Rapid Test is a highly sensitive and specific one step assay for the qualitative detection of dengue virus NS1 antigen. When added to the specimen well, NS1 antigen present in the specimen reacts with mouse monoclonal anti-dengue Ab colloidal gold conjugates, forming a complex of antibodies and antigen. As this complex migrates along the test device, by chromatography, it is captured by immobilized antibodies producing a colored test line adjacent to "T" (NS1 antigen Test Line). A second line is used for procedural control and should always appear adjacent to "C" (Control Line) if the test procedure is performed correctly and the active ingredients of main components on the strip are working. When dengue virus NS1 antigen is present in the specimen, both the Control ("C") and Test ("T") Lines appear in the result window, indicating a positive result. Only the Control Line ("C") appears for specimens that do not contain NS1 antigen or contain NS1 antigen below the detectable levels, indicating a negative result. The Dengue IgG/IgM Rapid Test is a qualitative assay for the differential detection of IgG and IgM antibodies to dengue virus. This test detects antibodies for all four dengue serotypes by using a mixture of recombinant dengue envelope proteins. When added to the specimen well, anti-dengue IgG and IgM present in the specimen react with the recombinant dengue virus envelope protein-colloidal gold conjugates, forming a complex of antibodies and antigen. As this complex migrates along the test device, by chromatography, it is captured by immobilized anti-human IgG and/or anti-human IgM producing two colored Test Lines adjacent to "G" (Dengue IgG Test Line) and/or "M" (Dengue IgM Test Line). A third line is used for procedural control and should always appear adjacent to "C" (Control Line) if the test procedure is performed correctly and the active ingredients of main components on the strip are working. When dengue antibodies are present in the specimen, both the Control ("C") and Test ("G" and/or "M") Lines appear in the result window, indicating a positive result. Only the Control Line ("C") appears for specimens that do not contain dengue IgG/IgM ("G"/"M"), or that contain these antibodies below the detection limit of the assay, indicating a negative result. (Intended use) The SD BIOLINE Dengue Duo Rapid Test is an *in vitro* immunochromatographic, one step assay designed to detect dengue virus NS1 antigen, IgG and IgM antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. The test is intended for professional use, to aid in the presumptive diagnosis of primary and secondary dengue infections. The SD BIOLINE Dengue Duo provides only a preliminary test result. Specific alternative diagnostic methods must be used to obtain a confirmation of dengue virus infection. This may include isolation of virus, antigen detection in fresh tissues, RT-PCR and virological testing such as haemagglutination inhibition.

Materials provided and active ingredients of main components

1. SD BIOLINE Dengue Duo kit contains the following items to perform the assay:

Components	Cat. No. 11FK45	Cat. No. 11FK46
Dengue NS1 Ag and Dengue IgG/IgM combo device, individually packaged including desiccants sachet	10	25
Assay diluent for Dengue IgG/IgM test	1.3 mL	1.5 mL
Capillary pipettes for dengue IgG/IgM (10 µL)	10	25
Disposable droppers for dengue NS1 Ag test	1	1
Instructions for use	1	1

2. Active ingredient of main components:

(Dengue NS1 Ag)

- Negative result:** The presence of only Control Line ("C") in the result window indicates that NS1 antigen was not present in the specimen or is present below the detectable levels.
 - Positive result:** The presence of two colored lines ("C" and "T") in the result window indicates that the specimen is positive for NS1 antigen. This suggests an early dengue infection.
 - Invalid result:** No Control Line ("C") in the result window means the test is invalid, whether or not the Test Line ("T") is present. The instructions may not have been followed correctly or the test may have been compromised. When an invalid result is obtained, it is recommended that the specimen be retested using a new device.
- (Dengue IgG/IgM)
- Negative result:** The presence of only Control Line ("C") in the result window indicates that IgG and IgM antibodies to dengue are not present in the specimen or are present below the detectable levels. Detecting < 5 days after dengue infection is suspected.
 - IgG positive result:** The presence of two colored lines ("C" and "G") in the result window indicates that the specimen is positive for IgG antibodies to dengue. This suggests a primary dengue infection.
 - IgM positive result:** The presence of two colored lines ("C" and "M") in the result window indicates that the specimen is positive for IgM antibodies to dengue. This suggests a late primary or early secondary dengue infection.
 - Invalid result:** No Control Line ("C") in the result window means the test is invalid, whether or not the Test Line ("M" and/or "G") is present. The instructions may not have been followed correctly or the test may have been compromised. When an invalid result is obtained, it is recommended that the specimen be retested using a new device.

Test limitations

- The level of dengue virus NS1 antigen, IgG and IgM antibodies vary depending on the stage of disease. In early infections and some secondary infections, detectable levels of IgM antibodies may be low. Some patients may not produce detectable levels of antibody within the first seven to ten days after infection. If the test result is negative and clinical symptoms persist, a second specimen should be collected, 3-4 days later from the first specimen collected.
- Anti-NS1 antibodies are produced in some patients. In this case, the detection of NS1 antigen is inhibited and a negative result may occur.
- A negative result can occur if the dengue NS1 antigen or dengue antibodies are not present in the specimen when it is collected or are below the detectable level. A negative test result does not exclude the possibility of dengue infection.
- As with all diagnostic tests, results must be considered with other clinical information available to the physician.
- Serological cross reactivity across Flavivirus genus (e.g. West Nile virus, St. Louis Encephalitis virus, Japanese Encephalitis virus, Yellow Fever virus, Zika virus) is common. While there was no cross reactivity observed in internal studies (see Performance Characteristics Section), cross reactivity with the Flavivirus genus must be considered as possible.
- Test results can vary according to the time at which the specimen was collected following onset of symptoms, the specimen type, serotype present in the population tested, reference method utilized and other factors. These variables must be considered when comparing studies.

Internal quality control

The SD BIOLINE Dengue NS1 Ag test has "T" (Test Line) and "C" (Control Line) marked on the surface of the device. The SD BIOLINE Dengue IgG/IgM test has "G" and "M" (Test Lines) and "C" (Control Line) marked on the surface of the device. The Control Lines are used as procedural controls. The presence of the Control Line shows that the diluent has been applied successfully and that the active ingredients of main components on the strip were functional, but is not a guarantee that the specimen has been properly applied and does not represent a positive specimen control.

Français

À propos du test

(Introduction) Les virus de la dengue, transmis par les moustiques *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, sont très répandus dans les régions tropicales et subtropicales. La dengue est une infection virale, transmise par les arthropodes, importante en raison des taux de morbidité et de mortalité élevés qui sont associés chez l'homme. Il existe quatre sérotypes distincts connus : le virus de la dengue 1, 2, 3 et 4. Chez l'enfant, l'infection est souvent subclinique ou entraîne une maladie fébrile qui guérit spontanément. Toutefois, si le patient est infecté une seconde fois avec un sérotype différent, il risque d'être atteint d'une forme plus sévère de la maladie, comme la dengue hémorragique ou la dengue avec syndrome de choc. L'antigène NS1 est une glycoprotéine hautement conservée, présente en concentrations élevées dans le sérum des patients infectés par le virus de la dengue au début de la phase clinique de la maladie. L'antigène NS1 est présent dans les échantillons de patients avec primo-infection ou dengue secondaire entre 1 et 9 jours après l'apparition de la fièvre. Le délai de détection des IgM est habituellement de 5 à 10 jours après la déclaration de la maladie au cours d'une primo-infection et de 4 à 5 jours après la déclaration de la maladie en cas de dengue secondaire. Dans les primo-infections, les IgG apparaissent le 14e jour et persistent toute la vie. En cas de dengue secondaire, les taux d'IgG augmentent pendant 1 à 2 jours après l'apparition des symptômes et une réponse par IgM est induite 20 jours après l'infection.

(Principe) Le test rapide SD BIOLINE Dengue Duo contient deux diagnostics immunochromatographiques *in vitro* pour le dépistage de l'infection par le virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total humains (côté gauche) : test Dengue NS1 Ag et côté droit : test Dengue IgG/IgM. Le test rapide Dengue NS1 Ag est un test en une étape, hautement sensible et spécifique conçu pour la détection qualitative de l'antigène NS1 du virus de la dengue. Lorsqu'il est ajouté au puits d'échantillon, l'antigène NS1 présent dans l'échantillon réagit avec les conjugués d'anticorps de souris monoclonales anti-virus de la dengue/or colloïdal pour former un complexe anticorps-antigène. Lorsque ce complexe migre dans le dispositif de test, par chromatographie, il est capturé par des anticorps immobilisés et produit une ligne de test colorée à côté de la lettre « T » (ligne de test de l'antigène NS1). Une deuxième ligne sert au contrôle de la procédure. Elle apparaît systématiquement à côté de la lettre « C » (ligne de contrôle) lorsque la procédure de test a été réalisée correctement et que les ingrédients actifs des principaux composants de la bandelette fonctionnent. Lorsque l'antigène NS1 du virus de la dengue est présent dans l'échantillon, la ligne de contrôle (« C ») et la ligne de test (« T ») apparaissent toutes deux dans la fenêtre de résultat pour indiquer que le résultat est positif. Seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît lorsque l'échantillon ne contient pas l'antigène NS1 ou lorsqu'il contient une quantité de l'antigène NS1 inférieure au niveau détectable ; dans ce cas, le résultat est négatif. Le test rapide Dengue IgG/IgM est un dosage qualitatif pour la détection différentielle des anticorps IgG et IgM dirigés contre le virus de la dengue. Ce test détecte les anticorps dirigés contre les quatre sérotypes du virus de la dengue grâce à un mélange de protéines recombinantes de l'enveloppe du virus de la dengue. Lorsqu'ils sont ajoutés au puits d'échantillon, les anticorps IgG et les IgM dirigés contre le virus de la dengue présents dans l'échantillon réagissent avec les conjugués de protéines recombinantes d'enveloppe du virus de la dengue – or colloïdal pour former un complexe anticorps-antigène. Lorsque ce complexe migre dans le dispositif de test, par chromatographie, il est capturé par des anticorps IgG anti-humains et/ou anti-humains et il produit deux lignes de test colorées à côté de la lettre « G » (ligne de test IgG anti-dengue) et/ou « M » (ligne de test IgM anti-dengue). Une troisième ligne sert au contrôle de la procédure et apparaît systématiquement à côté de la lettre « C » (ligne de contrôle) lorsque la procédure de test a été réalisée correctement et que les ingrédients actifs des principaux composants de la bandelette fonctionnent. Lorsque les anticorps dirigés contre le virus de la dengue sont présents dans l'échantillon, la ligne de contrôle (« C ») et les lignes de test (« G » et/ou « M ») apparaissent dans la fenêtre de résultat pour indiquer que le résultat est positif. Seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît lorsque l'échantillon ne contient pas d'anticorps IgG/IgM dirigés contre le virus de la dengue (« C ») ou lorsqu'il contient une quantité de ces anticorps inférieure à la limite de détection de test ; dans ce cas, le résultat est négatif. (Usage prévu) Le test rapide SD BIOLINE Dengue Duo est un dosage immunochromatographique *in vitro* en une étape conçu pour détecter l'antigène NS1 du virus de la dengue et les anticorps IgG et IgM dirigés contre le virus de la dengue dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Le test est réservé à un usage professionnel dans le cadre de la différenciation précoce entre une primo-infection et une dengue secondaire. Le test SD BIOLINE Dengue Duo fournit uniquement un résultat préliminaire. Par conséquent, d'autres méthodes de diagnostic spécifiques doivent être utilisées pour confirmer le diagnostic d'infection par le virus de la dengue, comme par exemple l'isolement du virus, la détection de l'antigène dans des préparations de tissus frais, le RT-PCR ou les tests sérologiques comme les réactions d'hémagglutination.

Matériel fourni et principes actifs des principaux composants

- Le kit SD BIOLINE Dengue Duo contient les éléments suivants pour la réalisation du test :

Composants	Réf. : 11FK45	Réf. : 11FK46
Dispositif combinant les tests Dengue NS1 Ag et Dengue IgG/IgM conditionné dans un emballage individuel incluant un désiccant	10	25
Diluant pour le test Dengue IgG/IgM	1,3 mL	1,5 mL
Pipettes capillaires pour le test Dengue IgG/IgM (10 µL)	10	25
Compte-gouttes jetables pour le test Dengue NS1 Ag	1	25
Manuel d'usage	1	1
- Principes actifs des principaux composants
 - (Dengue NS1 Ag)
 - 1 bandelette de test composée : Conjugués d'or : Anticorps monoclonal de souris anti-NS1 de la dengue-or colloïdal (0,72±0,05 µg), Ligne de test : Anticorps monoclonal de souris anti-NS1 de la dengue (0,72±0,14 µg), Ligne de contrôle : IgG de chèvre anti-souris (0,2±0,14 µg)
 - (Dengue IgG/IgM)
 - 1 bandelette de test composée : Conjugués d'or : Protéine recombinante de l'enveloppe du virus de la dengue – or colloïdal (1,0±0,2 µg), Ligne de test : IgG monoclonale de souris anti-humaine (5±1 µg), Ligne de test M : IgM monoclonale de souris anti-humaine (5±1 µg), Ligne de contrôle : IgG de lapin anti-dengue (2,5±0,5 µg)
- Le diluant du dosage contient :
 - Température 100 mM (g/L), acide sodique 0,011 M (pH)

Stockage et stabilité du kit

- Le dispositif de test est sensible à la chaleur et à l'humidité ; il doit être utilisé et stocké correctement.
- Conserver la bandelette de test entre 1 °C et 30 °C. Ne pas changer la bandelette de test ou les composants, ni les exposer à des températures élevées.
- Avant d'utiliser le test, vérifier que l'indicateur d'intégrité présent sur les dispositifs de l'emballage n'a pas

- l'échantillon prélevé dans le puits d'échantillon marqué « S ».
- Déposer 4 gouttes (environ 90 – 120 µL) de diluant dans le puits de diluant rond. (Dengue NS1 and Dengue IgG/IgM)
- Interpréter les résultats du test au bout de 15 à 20 minutes.
- Mise en garde : Ne pas lire les résultats au-delà de 20 minutes ; une lecture après 20 minutes peut donner des résultats erronés.

Interprétation du test (voir l'illustration)

Toute apparition d'une ligne de test, même très pâle, doit être interprétée comme un résultat positif. Pour une efficacité diagnostique optimale, la personne doit être considérée comme positive à une infection par le virus de la dengue si l'une des trois lignes de test (NS1, IgG ou IgM) apparaît.

- (Dengue NS1 Ag)
 - Résultat négatif:** Lorsque seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît dans la fenêtre de résultat, cela signifie que l'antigène NS1 n'était pas présent dans l'échantillon ou qu'il est présent en une quantité inférieure au seuil de détection.
 - Résultat positif:** La présence de deux lignes colorées (« C » et « T ») dans la fenêtre de résultat indique que l'échantillon est positif pour l'antigène NS1. Ce résultat est évocateur d'un début d'infection par le virus de la dengue.
 - Résultat non valide:** L'absence de ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat indique que le test n'est pas valide, même si une ligne de test (« T ») est présente. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test ait été endommagé. Lorsqu'un résultat non valide est obtenu, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.
- (Dengue IgG/IgM)
 - Résultat négatif:** Lorsque seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît dans la fenêtre de résultat, cela signifie que l'échantillon ne contient pas d'anticorps IgG/IgM dirigés contre le virus de la dengue, ou qu'ils sont présents en quantités inférieures au niveau détectable. En cas de suspicion d'une infection par le virus de la dengue, procéder à un nouveau test 3 à 5 jours plus tard.
 - Résultat positif aux IgG:** La présence de deux lignes colorées (« C » et « G ») dans la fenêtre de résultat indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgG dirigés contre le virus de la dengue. Ce résultat est évocateur d'une infection secondaire ou antérieure par le virus de la dengue.
 - Résultat positif aux IgG et aux IgM:** La présence de trois lignes colorées (« C », « G » et « M ») dans la fenêtre de résultat indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgG et IgM dirigés contre le virus de la dengue. Ce résultat est évocateur d'une primo-infection tardive ou d'une infection secondaire débilitante par le virus de la dengue.
 - Résultat non valide:** L'absence de ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat indique que le test n'est pas valide, même si une ligne de test (« M » et/ou « G ») est présente. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test ait été endommagé. Lorsqu'un résultat non valide est obtenu, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

Limites du test

- Le taux de l'antigène NS1 du virus de la dengue et des anticorps IgG et IgM varie selon le stade de la maladie.
- Les taux détectables d'anticorps IgM peuvent être faibles au début de l'infection et dans le cas de certaines infections secondaires. Certains patients peuvent ne pas produire des taux détectables d'anticorps au cours des sept à dix premiers jours de l'infection. Si le résultat du test est négatif mais que les symptômes persistent, prélever un deuxième échantillon 3 à 4 jours après le premier.
- Certains patients produisent des anticorps anti-NS1. Dans ce cas, la détection de l'antigène NS1 est inhibée et il est possible d'obtenir un résultat négatif.
- Il est possible d'obtenir un résultat négatif lorsque l'antigène NS1 du virus de la dengue ou les anticorps dirigés contre le virus de la dengue ne sont pas présents dans l'échantillon au moment où il est prélevé, ou s'ils sont présents en une quantité inférieure à la quantité détectable. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'infection par le virus de la dengue.
- Comme avec tous les tests de diagnostic, les résultats doivent être étudiés conjointement aux autres informations cliniques à la disposition du médecin.
- Une réactivité sérologique croisée entre les virus du genre Flavivirus (e.g. virus West Nile, virus de l'encéphalite de Saint-Louis, virus de l'encéphalite japonaise, virus de la fièvre jaune, virus Zika) est fréquente. Bien qu'aucune réactivité croisée ait été observée dans les études internes (voir le paragraphe Caractéristiques des performances), une réactivité croisée avec les virus du genre Flavivirus doit être considérée comme possible.
- Les résultats de test peuvent varier en fonction du moment où l'échantillon a été collecté après l'apparition des symptômes, du type d'échantillon, du sérotype présent dans la population étudiée, de la méthode de référence et d'autres facteurs. Ces variables doivent être prises en compte lors de la comparaison des études.

Contrôle qualité interne

Le dispositif du test SD BIOLINE Dengue NS1 Ag porte les lettres « T » (ligne de test) et « C » (ligne de contrôle) inscrites sur sa surface. Le dispositif de test SD BIOLINE Dengue IgG/IgM porte les lettres « G » et « M » (lignes de test) et « C » (ligne de contrôle) inscrites sur sa surface. Les lignes de contrôle servent au contrôle de la procédure. La présence de la ligne de contrôle montre que le diluant a été appliqué correctement et que les principaux actifs des composants principaux de la bandelette ont fonctionné, mais elle ne garantit pas que l'échantillon a été correctement appliqué et n'indique pas un contrôle positif de l'échantillon.

Valeurs attendues

L'antigène NS1 doit pouvoir être détecté dès le premier jour après l'apparition de la fièvre et persiste jusqu'à 9 jours, qu'il s'agisse d'une primo-infection ou d'une infection secondaire. La primo-infection par le virus de la dengue se caractérise par la présence détectable d'anticorps IgM 3 à 5 jours après le début de l'infection. La dengue secondaire se caractérise par une augmentation des anticorps IgG spécifiques 1 à 2 jours après le début de l'infection.

Lot	20
Instructions for use	1

- Active ingredients of main components:
 - [Denque NS1 Ag]
 - 1 test strip includes: Gold conjugate: Mouse monoclonal anti-denque NS1 – gold colloid (0.27±0.05 µg), Test Line: Mouse monoclonal anti-denque NS1 (0.72±0.14 µg), Control Line: Goat anti-mouse IgG (0.72±0.14 µg)
 - [Denque IgG/IgM]
 - 1 test strip includes: Gold conjugate: Recombinant Denque virus envelope protein – gold colloid (1.0±0.2 µg), Test Line G: Mouse monoclonal anti-human IgG (5±1 µg), Test Line M: Mouse monoclonal anti-human IgM (5±1 µg), Control Line: Rabbit anti-Denque IgG (2.5±0.5 µg)
- Assay diluent includes:
 - 100mM Phosphate buffer (pH 5.5), Sodium azide (0.01 w/v%)

Kit storage and stability

- The test device is sensitive to both heat and humidity and must be used and stored properly.
 - Store the test kit at between 1 °C and 30 °C. Do not freeze the kit or its components or expose them to high temperatures.
- Before using the test, check the humidity indicator on the desiccants in the pouch for color change. Discard the device if the humidity indicator is GREEN. Only use the device if the humidity indicator is YELLOW.
- Perform the test immediately after removing the test device from the foil pouch, to avoid exposure to moisture.
- Do not use the kit or its components beyond the expiration date.
- Do not use the device if the pouch is damaged or the seal is broken.

Warnings

- For *in vitro* diagnostic use only. Do not reuse test device and kit components.
- The instructions must be followed exactly to achieve accurate results. Any individual performing an assay with this product must be trained in its use and must be experienced in laboratory procedures.
- Do not eat or smoke while handling specimens.
- Wear protective gloves while handling specimens and wash hands thoroughly afterwards.
- Avoid splashing or aerosol formation of specimens and assay diluent.
- Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
- Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials (i.e. specimen applicator, test device) in a biohazard container as if they were infectious waste.

Specimen collection and storage

- Whole blood**
- Using venipuncture, draw whole blood into the collection tube (containing anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate).
 - Caution:** Do not use capillary blood.
 - If blood specimens are not immediately tested, they must be refrigerated at 2 - 8 °C.
 - If stored at - 8 °C, the blood specimen must be tested within 3 days.
 - Do not use a blood specimen stored for more than 3 days; it can cause a nonspecific reaction.
 - Bring blood specimens to room temperature (15 - 30 °C) prior to use.
- Plasma or Serum**
- [Plasma]** Using venipuncture, draw whole blood into the collection tube (containing anticoagulants including heparin, EDTA and sodium citrate) and then centrifuge the tube to get a plasma specimen.
 - [Serum]** Using venipuncture, draw whole blood into the collection tube (HDT containing anticoagulant). Leave blood to coagulate for 30 minutes and then centrifuge the tube to get a serum supernatant.
 - If plasma or serum specimens are not tested immediately, they must be refrigerated at 2 - 8 °C. For storage periods longer than 2 weeks, freezing (below -20 °C) is required. Specimens must be brought to room temperature (15 °C - 30 °C) prior to use.
 - Plasma or serum specimens containing a precipitate may yield inconsistent test results. Use standard laboratory techniques to clarify such specimens prior to testing.
- Precautions**
- Repeated frozen-thawed cycle for specimen should be avoided.
 - Anticoagulants including heparin, EDTA, and citrate do not affect the test result. Use of other anticoagulants have not been validated. Their use may affect the test result.
 - Use a new disposable dropper or pipette tip for each specimen in order to avoid cross-contamination of specimens, which could produce erroneous results.

Test procedure (Refer to figure)

- Allow all kit components and specimen to reach room temperature (between 15 °C and 30 °C) prior to opening and testing.
 - Remove the test device from the foil pouch, and place it on a flat dry surface. Label the test device with a patient identifier. Perform the test immediately to avoid exposing test device to moisture.
- [Denque NS1 Ag]**
- With a disposable dropper provided, dispense 3 drops (about 100 µl) of specimen into the specimen well 'S'.
- [Denque IgG/IgM]**
- With 10 µl capillary pipette provided, draw specimen to black line (10 µl) then dispense into the square specimen well 'S'.
 - Dispense 4 drops (about 90 - 120 µl) of assay diluent into the round assay diluent well.
 - Interpret test results at 15 - 20 minutes.
 - Caution: Do not read test results after 20 minutes; reading after 20 minutes can yield false results.

Test interpretation (Refer to figure)

The appearance of any Test Line, no matter how faint, must be interpreted as positive. For optimal diagnostic efficiency, an individual should be considered positive for dengue infection if any one of the three Test Lines (NS1, IgG or IgM) appears.

See user manual for more information. The test device is sensitive to both heat and humidity and must be used and stored properly. The test device is sensitive to both heat and humidity and must be used and stored properly. The test device is sensitive to both heat and humidity and must be used and stored properly.

Expected value

NS1 antigen is expected to be detected 1 day after the onset of fever and persist up to 9 days in both primary and secondary dengue infection. Primary dengue infection is characterized by the presence of detectable IgM 3 - 5 days after the onset of infection. Secondary dengue infection is characterized by the elevation of specific IgG 1 - 2 days after the onset of infection and, in the majority of cases, this is generally accompanied by an elevation of IgM 20 days after onset of symptoms.

Product Disclaimer:

While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the manufacturer and distributor and test results may accordingly be affected by environmental factors and/or user error. The subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the test result.

Warning:

The manufacturers and distributors of this product shall not be liable for any direct, indirect, or consequential losses, liability, claims, costs or damages arising from or related to an incorrect positive or negative diagnosis using this product.

- températures élevées.
- Avant d'utiliser le test, vérifiez que l'indicateur d'humidité présent sur les desiccants de l'emballage n'a pas changé de couleur. Jeter le dispositif si l'indicateur d'humidité est de couleur VERTE. Utiliser le dispositif que si l'indicateur d'humidité est de couleur JAUNE.
- Procéder au test immédiatement après avoir retiré le dispositif de test de l'emballage en aluminium pour éviter de l'exposer à l'humidité.
- Ne pas utiliser le kit ou ses composants au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser le dispositif si l'emballage est endommagé ou n'est plus étanche.

Avertissements

- Pour usage diagnostique à visu uniquement. Ne pas visualiser le dispositif de test et les composants du kit.
- Les instructions doivent être suivies à la lettre pour obtenir des résultats précis. Toute personne voulant réaliser ce test doit être formée et avoir l'expérience nécessaire en matière de procédures de laboratoire.
- Ne pas manger ni fumer pendant la manipulation des échantillons.
- Porter des gants de protection lors de la manipulation des échantillons et se laver soigneusement les mains après.
- Éviter les projections ou la formation d'aérosol avec les échantillons et le diluant du test.
- Nettoyer minutieusement tout désinfectant approprié.
- Décontaminer et jeter tous les échantillons, les kits de réaction et le matériel potentiellement contaminé (c'est-à-dire l'appareil d'échantillon et le dispositif de test) dans un conteneur pour déchets présentant un danger biologique comme s'il s'agissait de déchets infectieux.

Collecte et stockage des échantillons

- Sang total**
- Pratiquer une ponction veineuse pour recueillir le sang total dans le tube de prélèvement (contenant des anticoagulants tels que l'héparine, l'EDTA et le citrate de sodium).
 - Mise en garde:** Ne pas utiliser de sang capillaire.
 - Si les échantillons de sang ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés entre 2 et 8 °C.
 - Lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C, l'échantillon de sang doit être testé dans les 3 jours suivant le prélèvement.
 - Ne pas utiliser un échantillon de sang stocké depuis plus de 3 jours, au risque de provoquer une réaction non spécifique.
 - Ramener les échantillons de sang à température ambiante (entre 15 et 30 °C) avant utilisation.
- Plasma ou sérum**
- [Plasma]** Pratiquer une ponction veineuse pour recueillir le sang total dans le tube de prélèvement (contenant des anticoagulants tels que l'héparine, l'EDTA ou le citrate de sodium), puis centrifuger le tube pour obtenir un échantillon de plasma.
 - [Sérum]** Pratiquer une ponction veineuse pour recueillir le sang total dans le tube de prélèvement (SANS anticoagulant). Laisser le sang coaguler pendant 30 minutes, puis centrifuger le sang pour obtenir un surnageant sérique.
 - Si les échantillons de plasma ou de sérum ne sont pas testés immédiatement, ils doivent être réfrigérés entre 2 et 8 °C. Pour des périodes de stockage supérieures à 2 semaines, la congélation à une température inférieure à -20 °C est obligatoire. Les échantillons doivent être ramené à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant utilisation.
 - Les échantillons de plasma ou de sérum contenant un précipité peuvent générer des résultats de test incohérents. Appliquer des techniques de laboratoire standard pour clarifier ces échantillons avant de procéder au test.

Précautions

- Éviter de soumettre les échantillons à des cycles répétés de congélation-décongélation.
- Les anticoagulants, notamment l'héparine, l'EDTA et le citrate, n'influent pas sur le résultat du test. L'utilisation d'autres anticoagulants n'a pas été évaluée. Leur utilisation pourrait affecter le résultat du test.
- Utiliser un nouveau compte-gouttes ou un nouvel embout de pipette jetable pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons, qui pourrait entraîner des résultats erronés.

Procédure de test (voir l'illustration)

- Laisser tous les composants du kit et les échantillons atteindre la température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant d'ouvrir le kit et de procéder au test.
 - Retirer le dispositif de test de l'emballage en aluminium et le placer sur une surface plane et sèche.
 - Étiqueter le dispositif de test avec un identifiant patient. Effectuer le test immédiatement pour éviter d'exposer le dispositif de test à l'humidité.
- [Denque NS1 Ag]**
- À l'aide du compte-gouttes jetable fourni, déposer 3 gouttes (environ 100 µl) d'échantillon dans le puits d'échantillon « S ».
- [Denque IgG/IgM]**
- Avec la pipette capillaire de 10 µl fournie, prélever l'échantillon jusqu'au trait noir (10 µl), puis déposer

30°C

Stable between 1-30 °C
Conservation entre 1-30°C
Altération entre -8-30°C
Arrêt de la réaction à -30°C

LOT

Les Numéros de lot doivent être conservés et utilisés.

Instructions for use
Instructions de lecture
Avec le test, voir l'illustration de la notice.
Avec le test, voir l'illustration de la notice.

CE

Conforme aux normes CE
Désigné sous le numéro CE
Marque CE conformément à la directive sur les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (MDI)
Marque CE conforme à la directive 90/269/CEE relative à la protection des travailleurs contre les risques des machines
Marque CE de conformité à l'ordonnance (CE) relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro

IVD

For *in vitro* diagnostic use only
Pour diagnostic *in vitro* uniquement
Solo para uso de diagnóstico *in vitro*
Sólo para uso de diagnóstico *in vitro*

REF

Control Number
Número de referencia
N° de Catalogo

Manufacturer
Fabricante
Fabricante

CE

Conforme aux normes CE
Désigné sous le numéro CE
Marque CE conformément à la directive sur les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (MDI)
Marque CE conforme à la directive 90/269/CEE relative à la protection des travailleurs contre les risques des machines
Marque CE de conformité à l'ordonnance (CE) relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro

Do not reuse
Ne réutiliser pas le dispositif

EC REP

Authorized Representative
Representante autorizada
Representante autorizada

Device sufficient for 1 test
Dispositif suffisant pour 1 test
Dispositif suffisant pour 1 test
Dispositif suffisant pour 1 test

Use By
Date de péremption
Fecha de caducidad
In Use

1. el sustrato de prueba es sensible al calor y a la humedad, y ese sustrato y conservante asociado.
2. Almacene el kit de análisis a entre 1 °C y 30 °C. No coloque el kit ni sus componentes y no los exponga a altas temperaturas.
3. Antes de usar la prueba, compruebe el indicador de humedad en los desecantes de la bolsa por si ha cambiado el color. Deseché el dispositivo si el indicador de humedad es VERDE. Utilice el dispositivo únicamente si el indicador de humedad es AMARILLO.
4. Realice la prueba inmediatamente después de extraer el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio para evitar la exposición a la humedad.
5. No utilice el kit ni sus componentes después de su fecha de caducidad.
6. No utilice el dispositivo si la bolsa está dañada o el sello está rota.

Advertencias

1. Solo para uso diagnóstico in vitro. No realice el dispositivo de prueba ni los componentes del kit.
2. Las instrucciones se deben seguir al pie de la letra para lograr resultados exactos. Toda persona que realice un ensayo con este producto debe haber recibido formación sobre su uso y tener experiencia en los procedimientos de laboratorio.
3. No coma ni fume durante la manipulación de las muestras.
4. Use guantes de protección durante la manipulación de las muestras y lávese bien las manos cuando haya terminado.
5. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles de la muestra y del diluyente del ensayo.
6. Limpie a fondo los derrames con un desinfectante adecuado.
7. Descontamine y desecha todos los materiales, kits de reacción y materiales potencialmente contaminados (como el aplicador de la muestra o el dispositivo de prueba) en un recipiente para residuos biológicos peligrosos, como si se tratara de residuos infecciosos.

Recogida y conservación de la muestra

Sangre completa

- Mediante venopunción, recoja sangre completa en el tubo de recogida (con anticoagulantes que incluyen heparina, EDTA y citrato sódico).
- Precaución: No utilice sangre capilar.
- Si las muestras de sangre no se analizan de inmediato, deben refrigerarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.
- Si se almacena entre 2 y 8 °C, la muestra de sangre no debe utilizarse en un plazo de 3 días.
- No utilice muestras de sangre almacenadas durante más de 3 días; pueden causar una reacción no específica.
- Antes de su uso, las muestras de sangre deben alcanzar la temperatura ambiente (15-30 °C).

Plasma o suero

- [Plasma] Cuando se use la venopunción, recoja la sangre completa en el tubo de recogida (con anticoagulantes que incluyen heparina, EDTA y citrato sódico) y centrifúgalo el tubo para obtener una muestra de plasma.
- [Suero] Cuando se use la venopunción, recoja la sangre completa en el tubo de recogida (con anticoagulantes). Dopo coagular la sangre durante 30 minutos y centrifúgalo el tubo para obtener una muestra de suero del subgradiente.
- Si las muestras de plasma o suero no se analizan de inmediato, deben refrigerarse entre 2 y 8 °C. Para períodos de conservación superiores a dos semanas (por debajo de -20 °C), es necesario congelar las muestras. Se debe dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente (15 °C-30 °C) antes de su uso.
- Las muestras de plasma o suero que precipitan pueden producir resultados de prueba irreversibles. Utilice técnicas de laboratorio estándar para aclarar tales muestras antes de la prueba.

Precauciones

- Se debe evitar la repetición de ciclos de congelación-descongelación de las muestras.
- Los anticoagulantes que incluyen heparina, EDTA y citrato no afectan al resultado de la prueba. El uso de otros anticoagulantes no ha sido validado. Su uso puede afectar el resultado de la prueba.
- Utilice un nuevo cuentagotas o punta de pipeta desechable para cada muestra, con el fin de evitar la contaminación cruzada de las muestras, lo que podría producir resultados erróneos.

Procedimiento de la prueba (consulte la figura)

- Deje que los todos los componentes del kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente (entre 15 y 30 °C) antes de abrir y realizar la prueba.
- Extraiga el dispositivo de prueba de la bolsa de papel de aluminio y colóquelo en una superficie plana y seca. Etiquete el dispositivo de prueba con una identificación del paciente. Realice la prueba inmediatamente para evitar que el dispositivo de prueba se exponga a la humedad.

[Densitas NS1 Ag]

1. Con uno de los goteros desechables proporcionados, añada 3 gotas (100 µl aproximadamente) de la muestra en el pocillo para muestras "S".

[Densitas IgG (IgM)]

2. Con la pipeta capilar de 10 µl proporcionada, recoja la muestra en la línea negra (10 µl) y dispésela en el pocillo para muestras con forma cuadrada "S".

Declaración de responsabilidad del producto:

Si bien se han tomado todas las precauciones para garantizar la capacidad de diagnóstico y la precisión de este producto, el producto se utiliza fuera del control del fabricante y del distribuidor, y los resultados de la prueba pueden, en consecuencia, verse afectados por factores ambientales y/o errores del usuario. El paciente diagnosticado debe consultar con un médico para confirmar el resultado de la prueba.

Advertencia:

Los fabricantes y distribuidores de este producto no se hacen responsables de cualquier pérdida directa, indirecta o consecutiva, responsabilidad, reclamaciones, daños o costes derivados de, o relacionados con, un diagnóstico positivo o negativo incorrecto al usar este producto.

- antes que utilizar o teste, verifique el indicador de humedad en los desecantes en la bolsa cuanto a una alteración de color. Elimine el dispositivo si el indicador de humedad estuviere VERDE. Utilice el dispositivo apenas se o indicador de humedad estuviere AMARILLO.
- Realice o teste inmediatamente após retirar o dispositivo de teste da bolsa de folha de alumínio, a fim de evitar a exposição à humidade.
- 2. Não utilize o kit nem os componentes após a data de validade.
- 3. Não utilize o dispositivo se a bolsa estiver danificada ou se o selo estiver quebrado.

Avisos

1. Apenas para utilização em diagnóstico in vitro. Não realice o dispositivo de teste nem os componentes do kit.
2. As instruções devem ser seguidas com exatidão para obter resultados precisos. Qualquer indivíduo que execute um ensaio com este produto deve ter formação na utilização do mesmo e experiência em procedimentos de laboratório.
3. Não coma nem fume durante o manuseamento das amostras.
4. Use luvas de proteção durante o manuseamento das amostras e lave bem as mãos posteriormente.
5. Evite salpicos ou a formação de aerossóis da amostra e do diluente de ensaio.
6. Limpe completamente os derrames utilizando um desinfetante apropriado.
7. Descontamine e elimine todas as amostras, kits de reação e materiais potencialmente contaminados (sujeito aplicador de amostra, dispositivo de teste) como se fossem resíduos infecciosos num recipiente para materiais que apresentem risco biológico.

Colheita e conservação das amostras

Sangue total

- Através de punção venosa, proceda à colheita de sangue total para o tubo de colheita (contendo anticoagulantes, como heparina, EDTA e citrato de sódio).
- Atenção: não utilize sangue capilar.
- Se as amostras de sangue não forem testadas imediatamente, devem ser refrigeradas a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- Quando é armazenada a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C, a amostra de sangue deve ser analisada no prazo de 3 dias.
- Não utilize uma amostra de sangue armazenada há mais de 3 dias; pode causar uma reação não específica.
- Antes da utilização, as amostras de sangue devem ser colocadas à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).

Plasma ou soro

- [Plasma] Através de punção venosa, proceda à colheita do sangue total para o tubo de colheita (contendo anticoagulantes, como heparina, EDTA e citrato de sódio) e, em seguida, centrifugue o tubo para obter uma amostra de plasma.
- [Suero] Através de punção venosa, proceda à colheita do sangue total para o tubo de colheita (SEM anticoagulantes). Deve o sangue coagular durante 30 minutos e, em seguida, centrifugue o tubo para obter a amostra de soro do subgradiente.
- Se as amostras de plasma ou soro não forem testadas imediatamente, devem ser refrigeradas a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C. Para períodos de conservação superiores a 2 semanas, é necessário proceder à congelação (temperatura inferior a -20 °C). Antes da utilização, as amostras devem ser colocadas à temperatura ambiente (15 °C-30 °C).
- As amostras de plasma ou de soro que contêm um precipitado podem produzir resultados de teste inconsistentes. Utilize técnicas laboratoriais padrão para clarificar estas amostras antes do teste.

Precações

- Devem evitar-se ciclos repetidos de congelamento/descongelamento de amostras.
- Os anticoagulantes como a heparina, o EDTA e o citrato não afetam o resultado do teste. A utilização de outros anticoagulantes não foi validada. A sua utilização pode afetar o resultado do teste.
- Utilize um novo conta-gotas ou uma ponta de pipeta descartável para cada amostra para evitar a contaminação cruzada de amostras, o que poderia produzir resultados erróneos.

Procedimento de teste (Consulte a figura)

- Deje que todos os componentes do kit e amostras atinjam uma temperatura ambiente (entre 15 °C e 30 °C) antes de abrir a embalagem e realizar o teste.
- Retire o dispositivo de teste da bolsa de folha de alumínio e coloque-o numa superfície nivelada e seca. Coleque uma etiqueta no dispositivo de teste com um identificador de paciente. Realize o teste imediatamente para evitar a exposição do dispositivo de teste a humidade.

[Densitas NS1 Ag]

1. Com o conta-gotas descartável fornecido, adote 3 gotas (cerca de 100 µl) de amostra no poço da amostra "S".

[Densitas IgG (IgM)]

2. Com uma das pipetas capilares de 10 µl fornecidas, recolha uma amostra até à linha preta (10 µl) e, em seguida, transfira-a para o poço quadrado da amostra "S".

3. Deite 1 gota (cerca de 90 - 120 µl) de diluente do ensaio no poço para o diluente do ensaio com forma redonda.

Reinício do produto:

Embora tenham sido tomadas todas as precauções para garantir a capacidade e validade de diagnóstico deste produto, o mesmo é utilizado fora do controlo do fabricante e distribuidor, pelo que os resultados dos testes podem ser afetados em conformidade com fatores ambientais e/ou erros dos utilizadores. A pessoa a quem se aplica o diagnóstico deve consultar um médico para confirmar positivamente o resultado.

Aviso:

Os fabricantes e os distribuidores deste produto não se responsabilizam por qualquer perda direta, indirecta ou consecutiva, compensação, reclamações, custos ou danos resultantes ou relacionados com um diagnóstico incorrecto, seja este positivo ou negativo, após a utilização do produto.

Bibliography of suggested reading / Bibliographie suggérée /

Bibliografía de lecturas sugeridas / Referências bibliográficas

1. Pypel MJ, Wright PI. The effects of site-directed mutagenesis on the dimension and secretion of the NS1 protein specified by dengue virus. *Virology* 1993; 194:68-80.
2. SHU F, HONG W, J Cornet and others: *Bioengine diagnosis*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2004 Jul; 11(4):642-50.
3. Akon S, Takama A, Ikegaya M, Faloney A, Duabel V, Fulmard M. 2002. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 non structural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J. Clin. Microbiol.* 40:376-381.
4. Jan Green et al. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue-virus specific immunoglobulin M and G Antibodies. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10(7):61-67, 2000.
5. Whitney Tatcha, Hang TT Wu, Nhu VN Quynh, Chau VV Nguyen, Hien T Tan, Jeremy Farrar, Bridget Willis and Cameron P Simmons. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viremia and antibody responses. *BMC Infectious Diseases* 2010, 10:142.

6. Stuart D, Blackwell, Richard G. Jarman, Mark S. Bailey, Anupam Tungpancharthcharchai, Kemajitra Jenjaroen, Robert V. Gibbons, David H. Park, Rungjan Premaratna, H. Jarulata, de Silva, David G. Lalloo and Nicholas P. J. Day. Evaluation of Six Commercial Point-of-Care Tests for Diagnosis of Acute Dengue Infections: the Need for Combining NS1 Antigen and IgM/IgG Antibody Detection to Achieve Acceptable Levels of Accuracy. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011, 18(1):2.
7. Luis A. Sanchez-Vargas et al. E. Sánchez-Vargas et al. *Victory Vaccine: Ctl. Evaluation of the SD BDLINE dengue dual rapid test in the course of acute and convalescent dengue infections in a Mexican endemic region.* HYPERLINK: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22489246> *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014 Apr; 18(4):368-72.
8. Mitchell B.L. et al. Impact freeze-thaw cycles and storage time on plasma samples used in mass spectrometry based biomarker discovery projects. *Cancer Informatics.* 2005; 1:98-104.
9. Galhard S. et al. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. *Biochimica Medica.* 2013; 23(1):70-77.
10. Subbarao PA. Evaluation of Dengue NS1 Antigen Rapid Tests and ELISA Kits Using Clinical Samples. Published: November 20, 2014. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0113411>


 Manufactured by
STANDARD DIAGNOSTICS, INC.
 65, Boulevard du Général de Gaulle, Yverville, République de Côte d'Ivoire
 Tel: 82-31-899-2800 Fax: 82-31-899-2840
<http://www.standardia.com> sd@standardia.com



 Authorized Representative
MT Promed Consulting GmbH
 Altonaer Deichweg 8/10 22386 St. Ingbert Germany
 Phone: +49 6894 581020, Fax: +49 6894 581821

Date issued: 2019. 12
 118165-64-2-1
 118166-64-2-1

Performance characteristic

SD BIOLINE Dengue Duo test kit is designed to have 92.4% (95% CI : 86.1-95.9 %) of sensitivity and 98.4 % (95% CI : 95.5-99.5 %) specificity for Dengue NS1 Ag. And for the detection of Dengue IgG/IgM, it is designed to have 94.2 (95% CI : 88.5-97.2 %) of sensitivity and 96.4 (95% CI : 93.0-98.2 %) of specificity.

A total of 310 serum specimens collected from Philippines were tested with the SD BIOLINE Dengue Duo in Korea and the specimens were confirmed by RT-PCR.

Dengue NS1 Ag	Dengue Duo	
	Pos.	Neg.
Reference assay: RT-PCR	Pos. (118)	189
	Neg. (152)	3

A total of 340 serum specimens collected from Philippines were tested with the SD BIOLINE Dengue Duo in Korea and the specimens were confirmed by ELISA.

Dengue IgG/IgM	Dengue Duo	
	Pos.	Neg.
Reference assay: ELISA	Pos. (129)	113
	Neg. (220)	8

Even though our intended performance is as above, the results of individual laboratories may vary from these data because the results can be unique to the population it serves depending upon geographical, patient, dietary, environmental and other factors.

Highest sensitivity and clinical utility is achieved by considering all three results (NS1 Ag, IgG and IgM) in aggregate versus the reference methods. An individual is considered positive for dengue infection if any of the three Test Lines appears. Positive results on two or more Test Lines provide greater confidence in the diagnosis of dengue infection.

SD BIOLINE Dengue Duo test kit has been evaluated in 4 different sites as below.

Study Site 1

Overall Sensitivity of SD BIOLINE Dengue Duo related to clinical symptoms

A total of 230 serum specimens collected from Philippines were tested with the SD BIOLINE Dengue Duo in Korea and the specimens were confirmed by RT-PCR.

Days after symptom onset	No. of specimens	No. of positive specimens (%)			NS1 Ag	Final Result (%)
		IgG	IgM	Total		
Primary infection						
1-7	52	9 (17.3)	21 (40.0)	30 (57.3)	41 (82.7)	49 (94.2)
8-14	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	35 (99.9)	30 (100)
15-21	36	35 (97.2)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)	36 (100)
Secondary infection						
1-7	36	24 (66.7)	8 (22.2)	32 (88.9)	24 (66.7)	31 (86.1)
8-14	34	34 (100)	38 (53.3)	34 (100)	14 (41.2)	34 (100)
15-21	47	42 (100)	24 (51.1)	47 (100)	3 (7.7)	42 (100)

*1: Dengue IgG and IgM antibody. *2: Dengue NS1 and/or IgG/IgM antibody

Study Site 2

Total 292 panels of plasma/sera collected from Vietnamese patients were tested on the SD BIOLINE Dengue Duo at Oxford University clinical research in Vietnam. A total 245 plasma/sera were confirmed by RT-PCR. The results were used to determine the sensitivity and specificity.

Result (95% CI): Sensitivity: 83.7% (78.4 - 88.1 %), Specificity: 97.9% (88.7 - 99.9 %)

Specimen type	Specimen No.	Dengue Duo	
		Pos.	Neg.
DENV-1	Primary	46	
	Secondary	87	
DENV-2	Intermediate	2	
	Primary	9	245
DENV-3	Primary	81	206
	Secondary	8	39
Other febrile illness		8	46

* 156 panels were collected less than 3 days of illness and 89 panels were collected more than 3 days of illness.

Study Site 3

Total 259 patients serum specimens collected from Sri Lanka were tested on the SD BIOLINE Dengue Duo at the Mahidol-Oxford Tropical Medicine Unit (MOTU), Bangkok, Thailand. The specimens were comprised of 99 acute dengue specimens and 160 non-dengue specimens with other confirmed acute febrile illness. 99 acute dengue specimens were confirmed by RT-PCR and MAC/GAC ELISA. The results were used to determine the sensitivity and specificity.

Result (95% CI): Sensitivity: 92.9% (87.9 - 97.1 %), Specificity: 88.8% (82.8 - 93.2 %)

Specimen Type	Specimen No.	Dengue Duo	
		Pos.	Neg.
DENV-1	1		
DENV-2	16		
DENV-3	47	99	7
DENV-4	2		
Undetermined*	33		
Non dengue infection*		160	142

* Undetermined: PCR negative, MAC and/or GAC ELISA positive

* Non dengue infection: Chikungunya (2), Leishmaniasis (5), Bacteremia (19), Scrub typhus (8), Q fever (7), Tuberculosis (4), Urinary tract infection (5), Malaria (1), Spotted fever (1)

Study Site 4

Sensitivity of SD BIOLINE Dengue Duo according to the type and phase of dengue infection. A total of 397 serum specimens collected from Mexico were tested on the SD BIOLINE Dengue Duo in order to evaluate the performance. The specimens were confirmed by having dengue infection by ELISA test. On the basis of NS1 Ag & IgG/IgM ELISA results and clinical data of patients, 310 specimens were diagnosed with dengue virus infection and 87 specimens were negative for all 3 ELISAs. The performance of SD BIOLINE Dengue Duo was evaluated against the overall results of ELISA tests.

Specimen type	No.	SD BIOLINE Dengue Duo		Result (95% CI)
		Positive	Negative	
Primary acute dengue	122	118	12	90.16% (84.47 - 95.86%)
Secondary acute dengue	17	11	6	64.71% (39.05 - 90.36%)
Secondary convalescent dengue	49	42	7	85.71% (77.56 - 92.85%)
Non dengue	87	9	78	Specificity: 88.66% (87.68 - 89.63 %)

* Dengue positive if at least 1 of NS1, IgM, or IgG marker was positive

* Non dengue if all 3 markers were negative

* Cross-reactivity test with other Flavivirus mediated and mosquito-borne disease

The following 1 potential cross-reacting pathogens had no effect on test results of SD BIOLINE Dengue Duo. Even though there are no cross reactivity in the results of internal study, the possibility can't be excluded completely.

Disease	Dengue IgM Positive/Total	Dengue IgG Positive/Total	Dengue NS1 Ag Positive/Total
Japanese Encephalitis	0/25	0/25	0/25
Yellow Fever	0/25	0/25	0/25
Malaria P. falciparum	0/25	0/25	0/25
Malaria P. vivax	0/25	0/25	0/25
Total	0/100	0/100	0/100

Reproducibility of SD BIOLINE Dengue Duo test results has been demonstrated by within run, between run and batch-to-batch studies using in-house reference panels. All values were identical to reference panel acceptance criteria.

The performance of SD BIOLINE Dengue Duo kit was evaluated with potential relevant interfering substances. Hemolytic, icteric, clotted specimens and those containing rheumatoid factors were investigated. None of the specimens were found to interfere with this test kit.

Caractéristiques de performances

Le kit de test SD BIOLINE Dengue Duo est conçu pour avoir une sensibilité de 92.4 % (IC 95 % : 86.1-95.9 %) et une spécificité de 98.4 % (IC 95 % : 95.5-99.5 %) pour l'antigène NS1 de la dengue. Pour la détection des anticorps IgG/IgM de la dengue, le test conçu pour avoir une sensibilité de 94.2 % (IC 95 % : 88.5-97.2 %) et une spécificité de 96.4 % (IC 95 % : 93.0-98.2 %).

Au total, 310 échantillons de sérum prélevés aux Philippines ont été analysés à l'aide du test SD BIOLINE Dengue Duo en Corée, et les échantillons ont été confirmés par RT-PCR.

Dengue NS1 Ag	Dengue Duo	
	Pos.	Neg.
Disage de référence: RT-PCR	Pos. (118)	189
	Neg. (152)	3

Au total, 340 échantillons de sérum prélevés aux Philippines ont été analysés à l'aide du test SD BIOLINE Dengue Duo en Corée, et les échantillons ont été confirmés par ELISA.

Dengue IgG/IgM	Dengue Duo	
	Pos.	Neg.
Disage de référence: ELISA	Pos. (129)	113
	Neg. (220)	8

Bien que la performance attendue soit celle indiquée ci-dessus, les résultats de chaque laboratoire peuvent différer de ceux ci-dessus car ils dépendent de la population concernée, notamment en raison de facteurs géographiques, de facteurs relatifs aux patients et au régime alimentaire, de facteurs relatifs à l'immunosénescence et d'autres facteurs.

Pour obtenir une sensibilité et une spécificité maximales, comparez les trois résultats ensemble (antigène NS1, anticorps IgG et IgM) aux méthodes de référence. Une personne est jugée positive pour l'infection par le virus de la dengue si l'une des trois lignes de test apparaît. Des résultats positifs sur deux lignes de test ou plus permettent un diagnostic plus sûr de l'infection par le virus de la dengue.

Le kit de test SD BIOLINE Dengue Duo a été évalué sur 4 sites différents, comme indiqué ci-dessous.

Centre d'étude 1

Sensibilité globale du test SD BIOLINE Dengue Duo en fonction des symptômes cliniques

Au total, 230 échantillons de sérum prélevés aux Philippines ont été analysés à l'aide du test SD BIOLINE Dengue Duo en Corée, et les échantillons ont été confirmés par RT-PCR.

Phase	Nombre de symptômes	Nombre d'échantillons positifs (%)				Ag NS1	Résultat final (%)
		IgG	IgM	Anticorps	Total		
Primary	52	47 (92.3)	21 (40.6)	41 (82.7)	49 (94.2)		90.6%
Infection	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	35 (99.9)		100%
Secondary	49	42 (85.7)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)		96.0%
Dengue	122	118 (96.7)	122 (100)	122 (100)	14 (41.2)		96.6%
Non dengue	87	9 (10.3)	78 (89.7)	87 (100)	3 (7.7)		88.6%

*1: Anticorps IgG et/ou IgM dirigés contre le virus de la dengue

*2: Antigène NS1 de la dengue et/ou anticorps IgG et IgM

Centre d'étude 2

Au total, 292 panels d'échantillons de plasma/serum prélevés sur des patients vietnamiens ont été testés avec le test SD BIOLINE Dengue Duo à l'unité de recherche clinique de l'Université d'Oxford au Vietnam. Parmi les 245 échantillons de plasma/serum provenant de 99 cas de dengue (DENV-1, 91 de dengue DENV-2, 16 de dengue DENV-3) après confirmation par RT-PCR, il a été possible de déterminer si le cas de dengue était primaire ou secondaire grâce à des tests MAC et GAC ELISA. 47 panels ont été prélevés sur des patients ne présentant aucun signe de dengue. Les résultats obtenus ont permis de déterminer la sensibilité et la spécificité.

Result (95% CI): Sensitivity: 83.7% (78.4 - 88.1 %), Specificity: 97.9% (88.7 - 99.9 %)

Type d'échantillon	Echantillon n°	SD BIOLINE Dengue Duo	
		Positif	Négatif
DENV-1	Primaire	46	
	Secondaire	87	
DENV-2	Primaire	2	
	Secondaire	81	245
DENV-3	Primaire	8	206
	Secondaire	8	39
Autre maladie fébrile		8	46

* 156 panels ont été prélevés après moins de 3 jours de symptômes et 89 après plus de 3 jours.

Centre d'étude 3

Au total, 259 échantillons de plasma/serum prélevés sur des patients du Sri Lanka ont été testés avec le test SD BIOLINE Dengue Duo à l'unité de recherche en médecine tropicale Mahidol-Oxford (MOTU) à Bangkok, en Thaïlande. Les échantillons composaient 99 échantillons de patients atteints de dengue aiguë et 160 échantillons prélevés chez des patients ne souffrant pas de la dengue mais d'une autre maladie fébrile aiguë confirmée. 99 échantillons de patients souffrant de dengue aiguë ont été confirmés par RT-PCR et MAC/GAC ELISA. Les résultats obtenus ont permis de déterminer la sensibilité et la spécificité.

Result (95% CI): Sensitivity: 92.9% (87.9 - 97.1 %), Specificity: 88.8% (82.8 - 93.2 %)

Type d'échantillon	Echantillon n°	SD BIOLINE Dengue Duo	
		Positif	Négatif
DENV-1	1		
DENV-2	16		
DENV-3	47	99	7
DENV-4	2		
Indéterminé*	33		
Infection autre que la dengue*		160	142

* Indéterminé: PCR négative, test MAC ou GAC ELISA positif

* Infection autre que la dengue: Chikungunya (2), leptospirose (33), bactériémie (19), fièvre typhoïde du Japon (8), fièvre Q (7), tuberculose (4), infection urinaire (5), paludisme (1), fièvre boutonneuse (1)

Centre d'étude 4

Sensibilité du test SD BIOLINE Dengue Duo selon le type et la phase d'infection du virus de la dengue. Au total, 397 échantillons de sérum prélevés au Mexique ont été analysés à l'aide d'un test SD BIOLINE Dengue Duo pour évaluer sa performance. L'infection des échantillons par le virus de la dengue a été confirmée par test ELISA. Sur la base des résultats du test ELISA pour l'Ag NS1 et les IgG/IgM et des données cliniques des patients, 310 échantillons ont été diagnostiqués avec une infection par le virus de la dengue et 87 échantillons étaient négatifs aux 3 tests ELISA. La performance du test SD BIOLINE Dengue Duo a été évaluée en fonction des résultats globaux des tests ELISA.

Type d'échantillon	Echantillon n°	SD BIOLINE Dengue Duo		Résultat (IC à 95 %)
		Positif	Négatif	
Dengue primaire en phase de convalescence	122	110	12	90.16% (84.47 - 95.86 %)
Dengue primaire en phase de convalescence	17	11	6	64.71% (39.05 - 90.36 %)
Dengue secondaire aiguë	49	42	7	85.71% (77.56 - 92.85 %)
Dengue secondaire en phase de convalescence	122	118	4	96.72% (95.96 - 97.48 %)
Infection autre que la dengue*	87	9	78	Specificity: 88.66% (87.68 - 89.63 %)

* Résultat positif pour la dengue à au moins l'un des marqueurs NS1, IgM ou IgG et/ou Ag positif

Centre d'étude 5

Test de réactivité croisée avec d'autres infections et maladies

Les 4 agents pathogènes suivants susceptibles de montrer une réactivité croisée ont été analysés pour les résultats du test SD BIOLINE Dengue Duo. Bien que les résultats de l'étude aient été négatifs, nous avons pu confirmer la réactivité croisée, entre éventuellement ne peut être entièrement exclu.

Maladie	Positifs aux IgG de la dengue/Total	Positifs aux IgM de la dengue/Total	Positifs à l'Ag NS1/Total
Encephalite japonaise	0/25	0/25	0/25
Fièvre jaune	0/25	0/25	0/25
Paludisme à P. falciparum	0/25	0/25	0/25
Paludisme à P. vivax	0/25	0/25	0/25
Total	0/100	0/100	0/100

La reproductibilité des résultats du test SD BIOLINE Dengue Duo (intra-cycle, inter-cycles et inter-lots) a été démontrée par des études comparatives à l'aide de panels internes de référence. Tous les valeurs étaient identiques aux critères d'acceptation des groupes de référence.

Les performances du kit SD BIOLINE Dengue Duo ont été évaluées avec des substances potentiellement interférentes. Des échantillons hémolytiques, lipémiens et icteriques, ainsi que des échantillons contenant des facteurs rhumatoïdes, ont été étudiés. Aucun de ces échantillons n'a montré d'interférence avec le kit de test.

Preparation / Préparation / Preparación / Preparação



- EN** First, open the package and look for the following contents:
- Test device with desiccants (including humidity indicator) in individual foil pouch
 - Assay diluent
 - Disposable dropper
 - Capillary pipette
 - Instructions for use

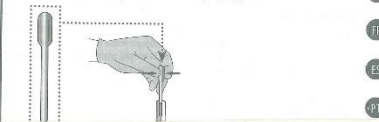
- FR** Premièrement, ouvrir l'emballage et identifier les éléments suivants :
- Dispositif de test avec desiccant (contenant un indicateur d'humidité) conditionné dans des emballages en aluminium individuels
 - Diluant du dosage
 - Compte-gouttes jetable
 - Pipette capillaire
 - Mode d'emploi

Test procedure / Procédure de test / Procedimiento de análisis / Procedimento de teste

1 Dengue NS1 Ag

Specimen collection / Prélèvement des échantillons / Obtención de la muestra / Colheita de amostras

Blood (by venipuncture, do not use capillary blood), plasma or serum specimen
 Échantillon de sang (par ponction veineuse - ne pas utiliser de sang capillaire), de plasma ou de sérum
 Muestra de sangre (por venopunción, no usar sangre capilar), plasma o suero
 Amostra de sangue (por punção venosa, não utilize sangue capilar), plasma ou soro



- Lightly squeezing a new disposable dropper and draw the specimen above the minimum fill line.
- Presser légèrement un nouveau compte-gouttes jetable et prélever l'échantillon au-delà de la ligne de remplissage minimum.
- Apriete ligeramente un nuevo gotero desechable y recoja la muestra por encima de la línea de llenado mínimo.
- Pressionando ligeiramente um novo conta-gotas descartável, retire a amostra para além da linha de enchimento mínimo.

- EN** En primer lugar, abra el envase y busque el siguiente contenido:
- Dispositivo de prueba con desecantes (incluye indicador de humedad) en la bolsa de papel de aluminio individual
 - Diluyente del ensayo
 - Gotero desechable
 - Pipeta capilar
 - Instrucciones de uso

1

EN Carefully read the instructions for using the SD BIOLINE Dengue Duo test.

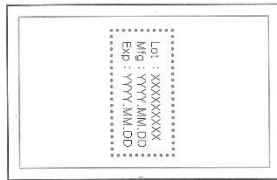
ES Lea detenidamente las instrucciones de uso de la prueba SD BIOLINE Dengue Duo.

- PT** Primeiro, abra a embalagem e procure o seguinte:
- Dispositivo de teste com dessecantes (incluindo indicador de humidade) numa bolsa de folha de alumínio individual
 - Diluyente de ensaio
 - Conta-gotas descartável
 - Pipeta capilar
 - Instruções de utilização

FR Lire attentivement le mode d'emploi du test SD BIOLINE Dengue Duo.

PT Leia cuidadosamente as instruções para utilizar o teste SD BIOLINE Dengue Duo.

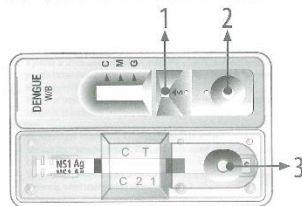
2



[For example / Par exemple / Por ejemplo / Por exemplo]

- EN** Next, look at the expiration date on the back of the foil pouch. If the expiration date has passed, use another lot.
- FR** Vérifier ensuite la date de péremption à l'arrière de l'emballage en aluminium. Si la date de péremption est dépassée, utiliser un autre lot.
- ES** A continuación, compruebe la fecha de caducidad en la parte posterior de la bolsa de papel de aluminio. Si la fecha de caducidad ha vencido, utilice otro lote.
- PT** A seguir, verifique o prazo de validade na parte posterior da bolsa de folha de alumínio. Se o prazo de validade tiver sido ultrapassado, utilize outro lote.

3



EN Open the foil pouch and look for the following:

- Specimen well for Dengue IgG/IgM
- Assay diluent well
- Specimen well for Dengue NS1
- Humidity Indicator in desiccants

If Humidity Indicator is **YELLOW**, label the device with the patient identifier and continue.
If Humidity Indicator is **GREEN**, discard the device and obtain another device for testing.

ES Abra la bolsa de papel de aluminio y localice lo siguiente:

- Pocillo para muestras para Dengue IgG/IgM
- Pocillo del diluyente del ensayo
- Pocillo para muestras para Dengue NS1
- Indicador de humedad en desecantes

Si el indicador de humedad es de color **AMARILLO**, etiquete el dispositivo con la identificación del paciente y continúe.
Si el indicador de humedad es **VERDE**, deseché el dispositivo y obtenga otro dispositivo para la prueba.



- Yellow: Use Device / Jaune: Utiliser le dispositif / Amarillo: Usar dispositivo / Amarela: Utilizar o dispositivo
- Green: Discard Device / Vert: Jeter le dispositif / Verde: Desechar dispositivo / Verde: Eliminar o dispositivo

FR Ouvrir l'emballage en aluminium et vérifier la présence des éléments suivants:

- Puits d'échantillon pour le test Dengue IgG/IgM
- Puits de diluant du test
- Puits d'échantillon pour le test Dengue NS1
- Indicateur d'humidité des desiccants

Si l'indicateur d'humidité est de couleur **JAUNE**, étiqueter le dispositif avec l'identifiant patient et poursuivre.
Si l'indicateur d'humidité est de couleur **VERTE**, mettre le dispositif au rebut et en utiliser un autre pour réaliser le test.

PT Abra a bolsa de folha de alumínio e procure o seguinte:

- Poço da amostra para Dengue IgG/IgM
- Poço do diluente do ensaio
- Poço da amostra para Dengue NS1
- Indicador de humidade em dessecantes

Se o indicador de humidade apresentar a cor **AMARELA**, etiquete o dispositivo com o identificador do paciente e continue.
Se o indicador de humidade apresentar a cor **VERDE**, elimine o dispositivo e obtenha um outro dispositivo para o teste.

2 Dengue IgG/IgM
Specimen collection / Prélèvement des échantillons / Obtención de la muestra / Colheita de amostras

EN Blood (by venipuncture, do not use capillary blood), plasma or serum specimen
Échantillon de sang (par ponction veineuse - ne pas utiliser de sang capillaire), de plasma ou de sérum
Muestra de sangre (por venipunción, no usar sangre capilar), plasma o suero
Amostra de sangue (por punção venosa, não utilize sangue capilar), plasma ou soro

EN Using a new disposable capillary pipette, draw specimen up to the fill line (10 µl).
Caution: Haemolysed or stored for a long time (more than 24 hours) specimen should not be used.

FR Avec une nouvelle pipette capillaire jetable, prélever l'échantillon jusqu'à la ligne de remplissage (10 µl).
Mise en garde: Les échantillons hémolysés ou conservés pendant une durée prolongée (plus de 24 heures) ne doivent pas être utilisés.

ES Con una nueva pipeta capilar desechable, recoja esta muestra hasta la línea de llenado (10 µl).
Precaución: No se deben utilizar muestras hemolizadas o almacenadas durante mucho tiempo (más de 24 horas).

PT Utilizando uma nova pipeta capilar descartável, retire a amostra até à linha de enchimento (10 µl).
Atenção: Não deverá utilizar uma amostra hemolisada ou armazenada durante um longo período de tempo (mais de 24 horas).

EN Dispense 3 drops (about 100 µl) of specimen into the specimen well "S".

FR Déposer 3 gouttes (environ 100 µl) d'échantillon dans le puits d'échantillon « S ».

ES Dispense 3 gotas (100 µl aprox.) de la muestra en el pocillo para muestras "S".

PT Deite 3 gotas (cerca de 100 µl) de amostra no poço da amostra "S".

EN Dispense 10 µl of specimen into the specimen well "S".

FR Déposer 10 µl d'échantillon dans le puits d'échantillon « S ».

ES Dispense 10 µl de la muestra en el pocillo para muestras "S".

PT Deite 10 µl de amostra no poço da amostra "S".

EN Dispense 4 drops (about 90-120 µl) of assay diluent vertically into the assay diluent well. **Exactly 4 drops must be added with the bottle held vertically.**

FR Déposer verticalement 4 gouttes (environ 90 à 120 µl) de diluant dans le puits pour diluant. **Déposer exactement 4 gouttes en tenant le flacon à la verticale.**

ES Dispense 4 gotas (entre 90 y 120 µl) de diluyente del ensayo verticalmente en el pocillo del diluyente del ensayo. **Deben agregarse exactamente 4 gotas mientras se sostiene el frasco en posición vertical.**

PT Deite 4 gotas (cerca de 90-120 µl) de diluente do ensaio verticalmente no poço para o diluente do ensaio. **Deve adicionar exatamente 4 gotas com o frasco na vertical.**

EN Immediately (within 20 seconds)
Immédiatement (dans les 20 secondes)
Inmediatamente (en un plazo de 20 segundos)
Imediatamente (no espaço de 20 segundos)

EN Dispense 4 drops (about 90-120 µl) of assay diluent vertically into the assay diluent well. **Exactly 4 drops must be added with the bottle held vertically.**

FR Déposer verticalement 4 gouttes (environ 90 à 120 µl) de diluant dans le puits pour diluant. **Déposer exactement 4 gouttes en tenant le flacon à la verticale.**

ES Dispense 4 gotas (entre 90 y 120 µl) de diluyente del ensayo verticalmente en el pocillo del diluyente del ensayo. **Deben agregarse exactamente 4 gotas mientras se sostiene el frasco en posición vertical.**

PT Deite 4 gotas (cerca de 90-120 µl) de diluente do ensaio verticalmente no poço para o diluente do ensaio. **Deve adicionar exatamente 4 gotas com o frasco na vertical.**

3 Set a timer / Utiliser un minuteur / Ajuste un temporizador / Ativar um temporizador

EN Interpret test results in 15-20 minutes.
Results read after 20 minutes may be inaccurate.

FR Interpréter les résultats au bout de 15 à 20 minutes.
Tout résultat lu au-delà de 20 minutes peut être erroné.

ES Interprete los resultados de la prueba después de 15 a 20 minutos.
Los resultados leídos después de los 20 minutos podrían ser imprecisos.

PT Interprete os resultados do teste ao fim de 15 a 20 minutos.
Os resultados lidos após os 20 minutos podem ser imprecisos.

Características de rendimiento

El kit de análisis SD BIOLINE Dengue Duo se ha diseñado para tener una sensibilidad del 92,4% (IC del 95% 86,1-95,9%) y una especificidad del 98,4% (IC del 95% 95,5-99,5%) para el antígeno NS1 del dengue. Asimismo, para la detección de la IgG/IgM del dengue se ha diseñado para tener una sensibilidad del 94,2% (IC del 95% 88,5-97,2%) y una especificidad del 96,6% (IC del 95% 93,2-98,2%). En Corea, se analizaron con SD BIOLINE Dengue Duo un total de 330 muestras de suero recogidas en Filipinas, y los resultados se confirmaron mediante PCR en tiempo real.

Dengue NS1 Ag		Dengue Duo	
	Pos.	Neg.	
Ensayo de referencia: PCR en tiempo real	Pos. (110)	109	19
	Neg. (192)	3	189

En Corea, se analizaron con SD BIOLINE Dengue Duo un total de 340 muestras de suero recogidas en Filipinas, y los resultados se confirmaron mediante ELISA.

Dengue IgG/IgM		Dengue Duo	
	Pos.	Neg.	
Ensayo de referencia: ELISA	Pos. (120)	113	7
	Neg. (220)	8	212

Aunque el rendimiento precedido es el anterior, los resultados de los laboratorios individuales pueden ser diferentes a estos datos, ya que pueden ser exclusivos de la población atendida en función del área geográfica, el paciente, la línea, factores ambientales y otros.

La máxima sensibilidad y utilidad clínica se logran al considerar los tres resultados (antígeno NS1, IgG e IgM) en conjunto frente a los métodos de referencia. Se considera que una persona ha dado positivo en infección por dengue si aparece cualquiera de las tres líneas de prueba. Los resultados positivos en dos o más líneas de prueba proporcionan una mayor confianza en el diagnóstico de la infección por dengue.

El kit de análisis SD BIOLINE Dengue Duo se ha evaluado en 4 centros diferentes, como se indica más adelante.

1. **Centro 1 del estudio**
Sensibilidad global de la prueba SD BIOLINE Dengue Duo relacionada con síntomas clínicos
En Corea, se analizaron con SD BIOLINE Dengue Duo un total de 230 muestras de suero recogidas en Filipinas, y los resultados se confirmaron mediante PCR en tiempo real.

Día después de la aparición de los síntomas	Número de muestras	Número de muestras positivas (%)	NS1 Ag	Resultado final (**)			
		Anticuerpo IgM	Anticuerpo IgG	Total de anticuerpos(*)			
1-7	52	18 (17,3)	21 (40,4)	23 (44,2)	43 (82,7)	49 (94,3)	
8-14	30	26 (86,7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)	
15-21	36	33 (91,7)	26 (72,2)	36 (100)	5 (13,9)	36 (100)	
Infección secundaria	1-7	36	24 (66,7)	8 (22,2)	24 (66,7)	24 (66,7)	32 (88,9)
	8-14	34	34 (100)	34 (100)	34 (100)	34 (100)	34 (100)
	15-21	42	42 (100)	24 (57,1)	42 (100)	3 (7,1)	42 (100)

*1: IgG y/o IgM del dengue. *2: Dengue NS1 Ag y/o anticuerpos IgG e IgM

2. **Centro 2 del estudio**
Se analizaron un total de 292 paneles en plasma/suero recogidos de pacientes vietnamitas con SD BIOLINE Dengue Duo en una investigación clínica de la Universidad de Oxford en Vietnam. 245 paneles en plasma/suero agudo se componían de 138 DENV-1, 91 DENV-2, 16 DENV-3 confirmados por PCR en tiempo real. La interpretación como primaria/secundaria se basó en MAC e ICA/ELISA. 47 paneles se obtuvieron de pacientes sin evidencia de dengue. Los resultados se utilizaron para determinar la sensibilidad y la especificidad. Resultado (IC del 95%): Sensibilidad: 83,7% (78,4-88,1%), Especificidad: 97,9% (96,7-99,9%)

Tipo de muestra		N.º de muestra	SD BIOLINE Dengue Duo	Resultado (IC del 95%)
			Positivo	Negativo
DENV-1	Primaria	49		
	Secundaria	87		
	Intermedia	2		
DENV-2	Primaria	9	245 ^a	206
	Secundaria	81		39
	Intermedia	1		
DENV-3	Primaria	8		
	Secundaria	8		
Otra enfermedad febril			47	1

^a 156 paneles se obtuvieron con menos de 3 días de enfermedad y 89 paneles con más de 3 días de enfermedad.

3. **Centro 3 del estudio**
Se obtuvieron un total de 359 muestras de suero en Sri Lanka que se analizaron con SD BIOLINE Dengue Duo en la Unidad de Medicina Tropical Mahidol Oxford (MOU), Bangkok, Tailandia. Las muestras consistían en 99 muestras de dengue agudo y 160 muestras con otra enfermedad febril aguda confirmada que no fue dengue. 99 muestras de dengue agudo fueron confirmadas por PCR en tiempo real y MAC/GAC ELISA. Los resultados se utilizaron para determinar la sensibilidad y la especificidad. Resultado (IC del 95%): Sensibilidad: 92,9% (88,9-97,1%), Especificidad: 88,8% (82,8-93,2%)

Tipo de muestra		N.º de muestra	SD BIOLINE Dengue Duo	Resultado (IC del 95%)
			Positivo	Negativo
DENV-1	1			
DENV-2	16			
DENV-3	47	99	92	7
DENV-4	2			
Indeterminado ^a		33		
Infección por una enfermedad que no es dengue ^b		160	18	142

^a Indeterminada negativa por PCR, positiva por MAC e ICA/ELISA.
^b Infección por una enfermedad que no es dengue: Chikunguña (82), leptospirosis (33), bacteriemia (19), tifo de los matorrales (8), fiebre Q (7), tiberulosis (6), infección de las vías urinarias (5), malaria (1), fiebre malarial (1)

4. **Centro 4 del estudio**
Sensibilidad de SD BIOLINE Dengue Duo según el tipo y la fase de la infección por dengue
Un total de 397 muestras de suero obtenidas en México se analizaron con SD BIOLINE Dengue Duo para evaluar el rendimiento. Se confirmó que la muestra tenía la infección por dengue mediante la prueba ELISA. Sobre la base de los resultados de ELISA para el antígeno NS1 y los anticuerpos IgG/IgM y de la duración clínica de los pacientes, 310 muestras fueron diagnosticadas con infección por el virus del dengue y 87 muestras fueron negativas en los 3 ELISA. El rendimiento de SD BIOLINE Dengue Duo se evaluó frente a los resultados globales de las pruebas de ELISA.

Tipo de muestra		N.º de muestra	SD BIOLINE Dengue Duo	Resultado (IC del 95%)
			Positivo	Negativo
Dengue primario agudo	122	110	12	90,16% (84,47-95,86%)
Dengue primario en convalecencia	17	11	6	64,71% (39,85-90,36%)
Dengue secundario agudo	122	117	5	95,90% (91,97-99,83%)
Dengue secundario en convalecencia	49	43	6	87,76% (77,56-97,55%)
No dengue		87	9	78
				Especificidad ^a : 89,66% (80,88-96,63%)

^a Positivo al menos 1 día y menos 1 de los marcadores de NS1, IgM o IgG eran positivos.

^b No dengue si los 3 marcadores eran negativos.

5. **Prueba de reactividad cruzada con otras enfermedades mediadas por Flavivirus y transmitidas por mosquitos**
Los 4 patógenos siguientes con reactividad cruzada potencial no tuvieron efecto alguno en los resultados de la prueba SD BIOLINE Dengue Duo. A pesar de que no se muestra reactividad cruzada en los resultados del estudio interno, no puede descartarse por completo esta posibilidad.

Enfermedad	Dengue IgM positivo/total	Dengue IgG positivo/total	Dengue NS1 Ag positivo/total
Encefalitis japonesa	0/25	0/25	0/25
Fiebre amarilla	0/25	0/25	0/25
Malaria P. falciparum	0/25	0/25	0/25
Malaria P. vivax	0/25	0/25	0/25
Total	0/100	0/100	0/100

6. La reproducibilidad de la prueba SD BIOLINE Dengue Duo se ha demostrado mediante estudios linéares, interensayo y lote a lote con paneles de referencia internos. Todos los valores fueron idénticos o los criterios de aceptación de los paneles de referencia.

7. El rendimiento del kit SD BIOLINE Dengue Duo se evaluó con sistemas interferentes potencialmente relevantes. Se investigaron muestras hemolíticas, lipémicas, ictericas y con control de factores reumáticos. No se encontraron interferencias de ninguna de las muestras con este kit de análisis.

Características de desempeño

0 kit de teste SD BIOLINE Dengue Duo foi concebido para ter uma sensibilidade de 92,4% (IC de 95% 86,1-95,9%) e uma especificidade de 98,4% (IC de 95% 95,5-99,5%) para o antígeno NS1 Ag. E para a detecção de anticorpos IgG/IgM contra o dengue, foi concebido para ter uma sensibilidade de 94,2% (IC de 95% 88,5-97,2%) e uma especificidade de 96,6% (IC de 95% 93,2-98,2%). No total, foram testadas na Coreia 330 amostras de soro colhidas nas Filipinas com o SD BIOLINE Dengue Duo e as amostras foram confirmadas por RT-PCR.

Dengue NS1 Ag		Dengue Duo	
	Pos.	Neg.	
Ensaio de referência: RT-PCR	Pos. (110)	109	19
	Neg. (192)	3	189

No total, foram testadas na Coreia 340 amostras de soro colhidas nas Filipinas com o SD BIOLINE Dengue Duo e as amostras foram confirmadas por ELISA.

Dengue IgG/IgM		Dengue Duo	
	Pos.	Neg.	
Ensaio de referência: ELISA	Pos. (120)	113	7
	Neg. (220)	8	212

Muito embora o nosso desempenho previsto seja o apresentado anteriormente, os resultados de laboratórios individuais podem variar em relação a estes dados, porque os resultados podem ser condizentes da população a que se destinam, dependendo de fatores geográficos, de fatores relativos ao paciente, dietéticos, ambientais e de outros fatores.

A máxíma sensibilidade e utilidade clínica obtém-se ao considerar os três resultados (NS1 Ag, IgG e IgM) em conjunto versus os métodos de referência. Um indivíduo é considerado positivo quanto a infecção pelo vírus do dengue se qualquer uma das três linhas de teste aparecer. A obtenção de resultados positivos em duas ou mais linhas de teste elevam uma maior confiança no diagnóstico da infecção pelo vírus do dengue.

0 kit de teste SD BIOLINE Dengue Duo foi avaliado em 4 locais diferentes, conforme demonstrado abaixo.

1. **Local de estudo 1**
A sensibilidade geral do SD BIOLINE Dengue Duo relacionada com os sintomas clínicos
No total, foram testadas na Coreia 230 amostras de soro colhidas nas Filipinas com o SD BIOLINE Dengue Duo e as amostras foram confirmadas por RT-PCR.

Tipo de amostra		N.º de amostras	SD BIOLINE Dengue Duo	Resultado (IC del 95%)
			Positivo	Negativo
Dengue agudo primária	122	110	12	90,16% (84,47-95,86%)
Dengue convalescente	17	11	6	64,71% (39,85-90,36%)
Dengue agudo secundária	122	117	5	95,90% (91,97-99,83%)
Dengue convalescente secundária	49	43	6	87,76% (77,56-97,55%)
Sem virus do dengue		87	9	78
				Especificidade ^a : 89,66% (80,88-96,63%)

*1: Dengue IgG e/o IgM. *2: Dengue NS1 Ag e/o anticorpos IgG e IgM

2. **Local de estudo 2**
Um total de 292 paneles de plasma/soro colhidos de pacientes vietnamitas foram testados com o SD BIOLINE Dengue Duo em investigação clínica de la Universidad de Oxford no Vietnam. 245 amostras agudas de plasma/soro foram confirmadas por PCR em tempo real. A interpretação como primária/secundária se baseou em MAC e GAC ELISA. 47 paneles de 47 pacientes que não apresentavam qualquer evidência de dengue. Os resultados foram utilizados para determinar a sensibilidade e a especificidade. Resultado (IC de 95%): Sensibilidade: 83,7% (78,4-88,1%), Especificidade: 97,9% (96,7-99,9%)

Tipo de amostra		N.º de amostras	SD BIOLINE Dengue Duo	Resultado (IC del 95%)
			Positivo	Negativo
DENV-1	Primaria	49		
	Secundaria	87		
	Intermedia	2		
DENV-2	Primaria	9	245 ^a	206
	Secundaria	81		39
	Intermedia	1		
DENV-3	Primaria	8		
	Secundaria	8		
Otra doença febril			47	1

^a 156 amostras de soro colhidos com menos de 3 dias de doença e foram colhidos 89 amostras com mais de 3 dias de doença.

3. **Local de estudo 3**
Um total de 259 amostras de soro de pacientes colhidos no Sri Lanka foram testadas com o SD BIOLINE Dengue Duo na Mahidol Oxford Tropical Medicine Unit (MOU) (Unidade de medicina tropical de Mahidol-Oxford), Banguecoque, Tailandia. As amostras eram compostas por 99 amostras de dengue aguda e 160 amostras sem dengue com outra doença febril aguda confirmada. 99 amostras de dengue aguda foram confirmadas por RT-PCR e MAC/GAC ELISA. Os resultados foram utilizados para determinar a sensibilidade e a especificidade. Resultado (IC de 95%): Sensibilidade: 92,9% (88,9-97,1%), Especificidade: 88,8% (82,8-93,2%)

Tipo de amostra		N.º de amostras	SD BIOLINE Dengue Duo	Resultado (IC del 95%)
			Positivo	Negativo
DENV-1	1			
DENV-2	16			
DENV-3	47	99	92	7
DENV-4	2			
Não determinado ^a		33		
Sem infecção pelo virus do dengue ^b		160	18	142

^a Não determinado negativo por PCR, positivo por MAC e ICA/ELISA.

^b Sem infecção pelo virus do dengue: Chikunguña (82), leptospirose (33), bacteremia (19), febre de Yersingamshi (8), febre Q (7), tiberulose (6), Infecção do trato urinário (5), Malaria (1), febre malarial (1)

4. **Local de estudo 4**
Sensibilidade do SD BIOLINE Dengue Duo de acordo com o tipo e fase de infecção pelo virus do dengue
Um total de 397 amostras de soro colhidas no México foram testadas no SD BIOLINE Dengue Duo para avaliar o desempenho. As amostras foram confirmadas como sendo infecção pelo virus do dengue por teste ELISA. Com base nos resultados de NS1 Ag & IgG/IgM ELISA e nos dados clínicos dos pacientes, foram diagnosticadas 310 amostras com infecção pelo virus do dengue e 87 amostras não-dengue negativas em todos os 3 ELISA. O desempenho do SD BIOLINE Dengue Duo foi avaliado em relação aos resultados gerais dos testes ELISA.

Tipo de amostra		N.º de amostras	SD BIOLINE Dengue Duo	Resultado (IC del 95%)
			Positivo	Negativo
Dengue agudo primária	122	110	12	90,16% (84,47-95,86%)
Dengue convalescente	17	11	6	64,71% (39,85-90,36%)
Dengue agudo secundária	122	117	5	95,90% (91,97-99,83%)
Dengue convalescente secundária	49	43	6	87,76% (77,56-97,55%)
Sem virus do dengue		87	9	78
				Especificidade ^a : 89,66% (80,88-96,63%)

*1: Positivo para dengue se pelo menos 1 marcador de NS1, IgM ou IgG for positivo

*2: Sem virus do dengue se todos os 3 marcadores de NS1, IgM e IgG foram negativos

5. **Prueba de reactividad cruzada con otras enfermedades mediadas por Flavivirus e transmitidas por mosquitos**
Los 4 patógenos siguientes con reactividad cruzada potencial no tuvieron efecto alguno en los resultados de la prueba SD BIOLINE Dengue Duo. A pesar de que no se muestra reactividad cruzada en los resultados del estudio interno, no puede descartarse por completo esta posibilidad.

Enfermedad	Dengue IgM Positivo/Total	Dengue IgG Positivo/Total	Dengue NS1 Ag Positivo/Total
Encefalitis japonesa	0/25	0/25	0/25
Fiebre amarilla	0/25	0/25	0/25
Malaria P. falciparum	0/25	0/25	0/25
Malaria P. vivax	0/25	0/25	0/25
Total	0/100	0/100	0/100

6. La reproducibilidad de los resultados de los tests SD BIOLINE Dengue Duo fue demostrada por estudios intracalibre, entre ensayos e de lote-a-lote utilizando paneles de referencia internos. Todos los valores son idénticos a los criterios de aceptación de los paneles de referencia.

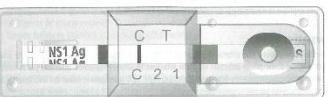
7. El desempeño del kit SD BIOLINE Dengue Duo fue evaluado con sustancias interferentes potencialmente relevantes. As amostras hemolíticas, lipémicas, ictericas e as com fatores reumáticos foram investigadas. Não se observou qualquer interferência destas espécies com o kit de teste.

Interpretation / Interpretation / Interpretation / Interpretation

Any line, no matter how faint, is interpreted as positive. / Toute ligne, même très pâle, est interprétée comme un résultat positif. / Cualquier línea, con independencia de lo débil que sea, se interpreta como positivo. / A presença de qualquer linha, mesmo sendo muito tênue, é interpretada como um resultado positivo.

Dengue NS1 Ag

Negative / Négatif / Negativo



- EN** The presence of only Control Line ("C") in the result window indicates that NS1 antigen was not present in the specimen or is present below the detectable levels.
- FR** Lorsque seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît dans la fenêtre de résultat, cela signifie que l'antigène NS1 n'était pas présent dans l'échantillon ou qu'il est présent à un niveau inférieur au niveau détectable.
- ES** La presencia solo de la línea de control ("C") en la ventana de resultados indica que el antígeno NS1 no estaba presente en la muestra o su nivel está por debajo de los niveles detectables.

Dengue IgG/IgM

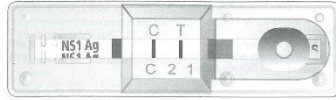
Positive / Positif / Positivo

1. IgM positive / Positif pour les IgM / IgM positivo



- EN** The presence of two colored lines ("C" and "M") in the result window indicates that the specimen is positive for IgM antibodies to dengue. Test is positive even if "M" line is faint. This suggests a primary dengue infection.
- FR** La présence de deux lignes colorées (« C » et « M ») dans la fenêtre de résultat indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgM dirigés contre le virus de la dengue. Le test est positif même si la ligne « M » est pâle. Ce résultat est évocateur d'une primo-infection par le dengue.

Positive / Positif / Positivo



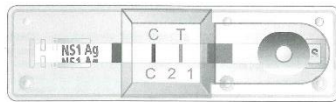
PT A presença de qualquer linha de controlo ("C") na janela de resultados indica que o antígeno NS1 não estava presente na amostra ou está presente a um nível inferior aos níveis detetáveis.

EN The presence of two colored lines ("C" and "T") in the result window indicates that the specimen is positive for NS1 antigen. Test is positive even if "T" line is faint. This suggests an early dengue infection.

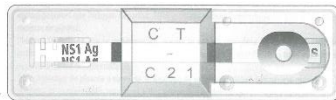
FR La présence de deux lignes colorées (« C » et « T ») dans la fenêtre de résultat indique que l'échantillon est positif pour l'antigène NS1. Le test est positif même si la ligne « T » est pâle. Ce résultat est évocateur d'une infection déboutante par le virus de la dengue.

ES La presencia de dos líneas de color ("C" y "T") en la ventana de resultados indica que la muestra es positiva para el antígeno NS1. La prueba es positiva incluso si la línea "T" es débil. Esto sugiere una infección temprana por dengue.

PT A presença de duas linhas coloridas ("C" e "T") na janela de resultados indica que a amostra é positiva para o antígeno NS1. O teste é positivo mesmo se a linha "T" for tênue. Isto sugere uma infeção inicial pelo vírus da dengue.



Invalid / Non valide / No válido / Inválido



EN No Control Line ("C") in the result window means the test is invalid, whether or not the Test Line ("T") is present. The instructions may not have been followed correctly or the test may have been compromised. When an invalid result is obtained, it is recommended that the specimen be retested using a new device.

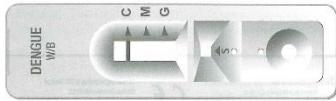
FR L'absence de ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat indique que le test n'est pas valide, même si une ligne de test (« T ») est présente. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test ait été endommagé. Lorsqu'un résultat non valide est obtenu, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

ES Si no hay línea de control ("C") en la ventana de resultados significa que la prueba no es válida, esté o no presente la línea de prueba ("T"). Es posible que no se hayan seguido las instrucciones correctamente o que la prueba se haya visto comprometida. Cuando se obtenga un resultado no válido, se recomienda volver a analizar la muestra usando un nuevo dispositivo.

PT Nenhuma Linha de controlo ("C") na janela de resultados significa que o teste é inválido, quer a Linha de teste ("T") esteja presente ou não. As instruções podem não ter sido seguidas corretamente ou o teste pode ter sido comprometido. Quando se obtém um resultado inválido, recomenda-se que a amostra seja novamente testada utilizando um novo dispositivo.

Dengue IgG/IgM

Negative / Négatif / Negativo

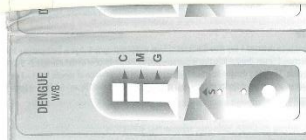


EN The presence of only Control Line ("C") in the result window indicates that IgG and IgM antibodies to dengue are not present in the specimen or are present below the detectable levels. Retest in 3-5 days if dengue infection is suspected.

FR Lorsque seule la ligne de contrôle (« C ») apparaît dans la fenêtre de résultat, cela signifie que les anticorps IgG et IgM dirigés contre le virus de la dengue ne sont pas présents dans l'échantillon ou qu'ils sont présents en quantité inférieure aux niveaux détectables. En cas de suspicion d'une infection par le virus de la dengue, procéder à un nouveau test 3 à 5 jours plus tard.

ES La presencia solo de la línea de control ("C") en la ventana de resultados indica que los anticorpos IgG e IgM contra el dengue no están presentes en la muestra o están presentes por debajo de los niveles detectables. Vuelva a analizar la muestra transcurridos de 3 a 5 días si se sospecha que existe infección por dengue.

PT A presença de qualquer linha de controlo ("C") na janela de resultados indica que os anticorpos IgG e IgM para a dengue não estão presentes na amostra ou estão presentes a níveis inferiores aos níveis detetáveis. Repita o teste passados 3 a 5 dias em caso de suspeita de infeção pelo vírus da dengue.



L'absence de ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat indique que le test n'est pas valide, même si une ligne de test (« M » et/ou « G ») est présente. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test ait été endommagé. Lorsqu'un résultat non valide est obtenu, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

ES La presencia de dos líneas de color ("C" y "M") en la ventana de resultados indica que la muestra es positiva para anticuerpos IgM contra el dengue. La prueba es positiva incluso si la línea "M" es débil. Esto sugiere una primoinfección por dengue.

PT A presença de duas linhas coloridas ("C" e "M") na janela de resultados indica que a amostra é positiva para os anticorpos IgM contra a dengue. O teste é positivo mesmo se a linha "M" for tênue. Isto sugere uma infeção primária pelo vírus da dengue.

2. IgG positive / Positif pour les IgG / IgG positivo



EN The presence of two colored lines ("C" and "G") in the result window indicates that the specimen is positive for IgG antibodies to dengue. Test is positive even if "G" line is faint. This suggests a secondary or past dengue infection.

FR La présence de deux lignes colorées (« C » et « G ») dans la fenêtre de résultat indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgG dirigés contre le virus de la dengue. Le test est positif même si la ligne « G » est pâle. Ce résultat est évocateur d'une infection secondaire ou antérieure par le virus de la dengue.

ES La presencia de dos líneas de color ("C" y "G") en la ventana de resultados indica que la muestra es positiva para anticuerpos IgG contra el dengue. La prueba es positiva incluso si la línea "G" es débil. Esto sugiere una infección por dengue secundaria o pasada.

PT A presença de duas linhas coloridas ("C" e "G") na janela de resultados indica que a amostra é positiva para os anticorpos IgG contra a dengue. O teste é positivo mesmo se a linha "G" for tênue. Isto sugere uma infeção secundária ou anterior pelo vírus da dengue.



3. IgG and IgM positive / IgG et IgM positifs / IgM e IgG positivo



EN The presence of three colored lines ("C", "M" and "G") in the result window indicates that the specimen is positive for both IgM and IgG antibodies to dengue. Test is considered positive even if "M" and/or "G" line(s) is faint. This suggests a late primary or early secondary dengue infection.

FR La présence de trois lignes colorées (« C », « M » et « G ») dans la fenêtre de résultat indique que l'échantillon est positif pour les anticorps IgG et IgM dirigés contre le virus de la dengue. Le test est positif même si la ligne « M » et/ou « G » est pâle. Ce résultat est évocateur d'une primoinfection tardive ou d'une infection secondaire déboutante par le virus de la dengue.

ES La presencia de tres líneas de color ("C", "M" y "G") en la ventana de resultados indica que la muestra es positiva para ambos anticuerpos IgM e IgG contra el dengue. La prueba se considera positiva, incluso si las líneas "M" y/o "G" son débiles. Esto sugiere una primoinfección tardía o una infección secundaria temprana por dengue.

PT A presença de três linhas coloridas ("C", "M" e "G") na janela de resultados indica que a amostra é positiva para os anticorpos IgM e IgG contra a dengue. O teste é considerado positivo mesmo se a(s) linha(s) "M" e/ou "G" for(em) tênue(s). Isto sugere uma infeção primária tardia ou secundária inicial pelo vírus da dengue.

Invalid / Non valide / No válido / Inválido



EN No Control Line ("C") in the result window means the test is invalid, whether or not the Test Line ("M" and/or "G") is present. The instructions may not have been followed correctly or the test may have been compromised. When an invalid result is obtained, it is recommended that the specimen be retested using a new device.

FR L'absence de ligne de contrôle (« C ») dans la fenêtre de résultat indique que le test n'est pas valide, même si une ligne de test (« M » et/ou « G ») est présente. Il se peut que les instructions n'aient pas été suivies correctement ou que le test ait été endommagé. Lorsqu'un résultat non valide est obtenu, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon à l'aide d'un nouveau dispositif de test.

ES Si no hay línea de control ("C") en la ventana de resultado significa que la prueba no es válida, esté o no presente la línea de prueba ("M" y/o "G"). Es posible que no se hayan seguido las instrucciones correctamente o que la prueba se haya visto comprometida. Cuando se obtenga un resultado no válido, se recomienda volver a analizar la muestra usando un nuevo dispositivo.

PT Nenhuma Linha de controlo ("C") na janela de resultados significa que o teste é inválido, quer a Linha de teste ("M" e/ou "G") esteja presente ou não. As instruções podem não ter sido seguidas corretamente ou o teste pode ter sido comprometido. Quando se obtém um resultado inválido, recomenda-se que a amostra seja novamente testada utilizando um novo dispositivo.

