



# CHEMSTRIP® Dengue 2.0



## Card Test

Test inmunocromatográfico para la detección rápida y cualitativa de anticuerpos IgM del virus del Dengue (DENV) en muestras de suero, plasma, sangre entera venosa y capilar.

*Immunochromatographic test for the rapid and qualitative detection of IgM antibodies to Dengue virus (DENV) in serum, plasma, venous and capillary whole blood.*

Autorizado por ANMAT PM 2360-07

15CSC09\_v14062021

<b>00</b> LFIA	 Humanos	 Chemtest Argentina S.A. Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina. info@chemtest.net - chemtest.net
-------------------	--	--

### Nombre y Aplicación

CHEMSTRIP® Dengue 2.0 es un test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección rápida (10 min) y cualitativa de anticuerpos IgM específicos del virus del Dengue (DENV) presentes en muestras de suero, plasma, sangre entera venosa o capilar de humanos.

### Introducción

La fiebre por dengue es una enfermedad viral aguda y autolimitada que se presenta con fiebre alta acompañada de dolor de cabeza muy intenso, dolor detrás de los globos oculares, dolores musculares y articulares, náuseas, vómitos, agrandamiento de ganglios linfáticos o sarpullido. En la forma de dengue grave la enfermedad cursa con extravasación de plasma, acumulación de líquidos, dificultad respiratoria, hemorragias graves o falla orgánica, y es potencialmente mortal. El virus de dengue es un flavivirus transmitido por la picadura de mosquitos del género Aedes, cercanamente relacionado a los virus de zika, fiebre amarilla y encefalitis de St. Louis. El dengue circula como un complejo de cuatro serotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4) y la infección con uno de los serotipos no protege frente a una segunda infección con un serotipo distinto del virus.

El virus de dengue es responsable de las mayores tasas de enfermedad y mortalidad entre los miembros de los flavivirus. En Argentina, se registraron brotes epidémicos en 2009 y 2016 durante los cuales se notificaron 26 mil y 76 mil casos confirmados, respectivamente. Se estima que en el país 4 millones de personas se encuentran en riesgo de infección por arbovirus debido a su situación socio-demográfica.

El diagnóstico diferencial de dengue es de fundamental importancia para el manejo clínico de los casos y el diagnóstico diferencial con otras enfermedades. En la mayoría de los pacientes, los casos sospechosos de dengue pueden diagnosticarse usando métodos serológicos. En particular, la detección de anticuerpos IgM es el método de elección ya que la respuesta IgM puede detectarse a partir de los días 3 a 5 después de la aparición de los síntomas y persistir hasta 90 días.

### Principio de la técnica

CHEMSTRIP® Dengue 2.0 es un test inmunocromatográfico basado exclusivamente en la detección de anticuerpos del isotipo IgM dirigidos contra el virus del Dengue (DENV). La prueba se basa en la captura inmunológica de nanopartículas de oro recubiertas con anticuerpos IgG de cabra anti-IgM humana durante su paso a través de una membrana. Las inmunoglobulinas de isotipo IgM presentes en la muestra de suero reaccionan con las partículas de oro funcionalizadas con los anticuerpos anti-IgM y los complejos formados migran por cromatografía hacia la zona de reacción en la membrana. En esta zona se ha inmovilizado el antígeno (proteína recombinante) y anticuerpos anti-IgG de cabra en las líneas de ensayo (TL) y control (CL), respectivamente. Si la muestra contiene anticuerpos IgM dirigidos contra el antígeno, los complejos nanopartícula-anticuerpo son capturados por el antígeno inmovilizado en la membrana (TL) lo cual se visualiza como una banda de color rojo púrpura. Independientemente de la presencia en la muestra de anticuerpos IgM específicos, los complejos que no fueron capturados en la TL continúan migrando y son capturados en la CL por los anticuerpos anti-IgG de cabra dando origen también a la formación de una banda de color rojo púrpura. La aparición de la línea de control indica que la cromatografía se ha desarrollado correctamente y en condiciones que aseguran la reacción antígeno-anticuerpo.

### Componentes del kit

Componentes	15-CSC09-10C	15-CSC09-20C	15-CSC09-40C
Tarjetas de prueba (en envoltorio trilaminado para protección de la luz y humedad)	x 10	x 20	x 40
Diluyente de muestra (gotero de plástico)	1 x 2,5 ml	1 x 5 ml	1 x 10 ml
Capilares graduados y heparinizados	x 10	x 20	x 40
Manual de instrucciones	x 1	x 1	x 1

### Materiales necesarios no incluidos en el kit

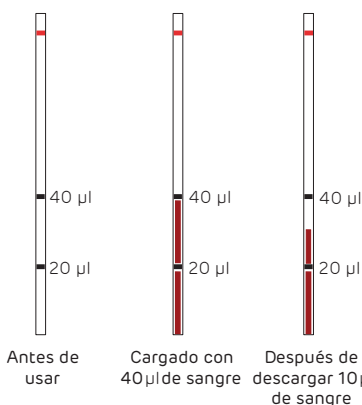
- Cronómetro.
- Micropipeta y puntas (para suero, plasma y sangre venosa).
- Lancetas (para punción capilar).
- Gasa (para punción capilar).

### Almacenamiento y vencimiento

- Almacenamiento: conservar a temperatura ambiente entre 15 y 25°C.
- Temperatura de transporte: 15 a 25°C.
- Período de vida útil: 12 meses.

### Precauciones

1. Leer atentamente y seguir todas las instrucciones de uso ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el Manual de instrucciones del kit.
2. Conservar el kit y todos sus componentes a temperatura ambiente (15-25°C). No almacenar el kit en heladera o freezer.
3. Mantener las tarjetas de prueba en su envoltorio original herméticamente cerrado y con el desecante para protegerlas de la luz y la humedad. Sacar la tarjeta de su envoltorio original solo inmediatamente antes de usarla.
4. No tocar con el dedo la ventana de lectura de las tarjetas de prueba ya que esto puede ocasionar resultados erróneos.
5. Manipular todos los reactivos y materiales siguiendo la Buenas Prácticas de Laboratorio.



6. Las muestras deben considerarse potencialmente infecciosas y, por lo tanto, los componentes del kit que las contactan deben manipularse con guantes y descartarse como residuo patológico según normativa legal vigente. El resto de los componentes del kit no representan ningún daño potencial para la salud o medio ambiente.

7. No usar el kit pasada la fecha de caducidad o si los componentes no fueron conservados en las condiciones indicadas arriba.

8. No utilizar componentes de diferentes lotes o después de la fecha de vencimiento.

9. La conservación correcta de todos los componentes del kit permitirá el uso del mismo hasta la fecha de caducidad.

Figura 1: Esquema de los capilares heparinizados y graduados. La marca roja indica que el capilar se encuentra recubierto en su interior con heparina sódica. Las marcas de graduación de color negro indican hasta donde debe cargarse el capilar para colectar 20 µl y 40 µl de sangre.

### Obtención y almacenamiento de las muestras

Las muestras contaminadas, en mal estado y/o mal conservadas pueden producir resultados erróneos.

#### Sangre entera por punción capilar

1. Limpiar la yema del dedo que se va a punzar (dedos anular, mayor o índice) con una gasa o algodón con etanol 70%. Dejar secar el dedo. Coloque la mano con la palma hacia arriba.

2. Presionar el extremo de la yema del dedo y perforar con una lanceta estéril. Utilizar una lanceta nueva para cada paciente.

Nota: utilizar una lanceta de flujo medio [0,8 mm (21G) de diámetro x 1,8 mm de longitud (profundidad de la incisión) o de flujo abundante [1,5 mm (18G) x 2,0 mm].

3. Mantener el dedo por debajo de la altura del codo y presionar suavemente a intervalos en la base del dedo (no presionar sobre la yema del dedo) varias veces. Tocar con la punta del capilar heparinado la gota de sangre y colectar hasta la segunda marca negra (40 µl) indicada en el tubo capilar (ver figura 1). Evitar la formación de burbujas de aire.

Nota: no presionar la yema del dedo lo cual podría generar hemólisis y por lo tanto resultados erróneos en el ensayo.

4. Analizar inmediatamente después de la recolección.

#### Sangre entera por venopunción

1. Colectar las muestras por venopunción en tubos con anticoagulante (heparina o citrato de sodio).

2. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2-8°C) durante 1 ó 2 días. En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar antes de realizar el análisis. No congelar las muestras de sangre entera.

3. No utilizar muestras hemolizadas.

#### Plasma

1. Colectar las muestras de sangre por venopunción en tubos con anticoagulante como heparina y citrato de sodio.

2. Obtener el plasma mediante centrifugación de la sangre a 3000 rpm durante 10 min.

3. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2-8°C) durante 1 ó 2 días. No utilizar muestras de plasma que hayan sido congeladas.

## Suero

1. Colectar las muestras por venopunción en tubos SIN anticoagulante.
2. Luego de la coagulación de la sangre (incubar 15 min a 37°C) obtener el suero mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 min.
3. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2-8°C) durante 1 ó 2 días. Para una conservación más prolongada se deben guardar a -20°C. En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar antes de realizar el análisis.

## Procedimiento

1. Retirar la tarjeta de prueba de su envoltorio original y colocarla sobre una superficie limpia y plana.
2. Agregar la muestra y el diluyente de muestra en el pad indicado con la letra S.

### Para sangre entera por punción capilar

-Descargar en la tira reactiva 10 µl de sangre entera obtenida por punción capilar tocando el pad (S) con la punta del capilar precargado. Esperar 1 minuto.

Nota: se recomienda cargar el capilar hasta la marca de 40 µl y luego descargar hasta la zona media entre las marcas de 40 y 20 µl (ver figura 1).

-Agregar sobre el pad de la tira reactiva 4 gotas del Diluyente de muestra (aproximadamente 140 µl). Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente añadido entre gota y gota.

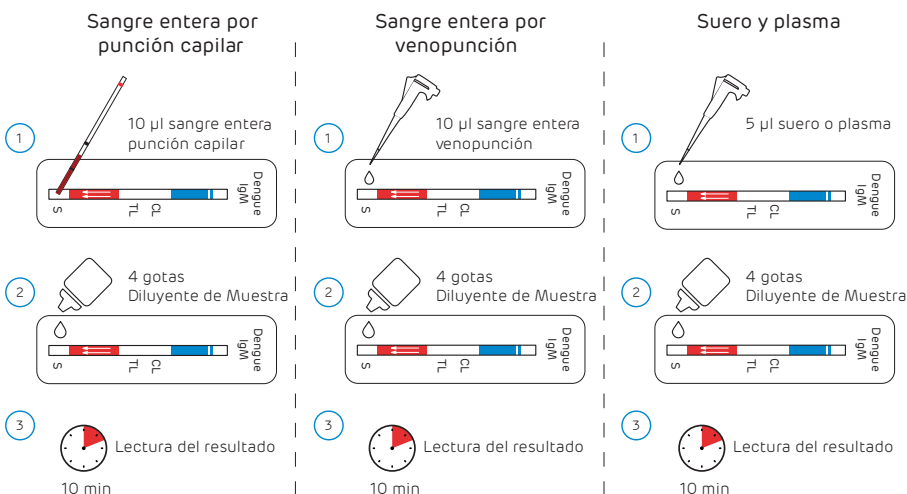


Figura 2: Procedimiento de la prueba para los distintos tipos de muestra.

### Para sangre entera por venopunción

-Agregar con micropipeta 10 µl de sangre entera obtenida por venopunción sobre el pad (S). Esperar un minuto.

-Agregar sobre el pad de la tira reactiva 4 gotas del Diluyente de muestra (aproximadamente 140 µl). Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente añadido entre gota y gota.

### Para suero y plasma

-Agregar con micropipeta 5 µl de suero o plasma sobre el pad (S).

-Agregar sobre el pad de la tira reactiva 4 gotas del Diluyente de muestra (aproximadamente 140 µl). Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente añadido entre gota y gota.

3. Esperar 10 minutos y leer el resultado.

## Interpretación de los resultados

**IgM positivo:** cuando se observan dos bandas de color rojo púrpura. Una correspondiente a la línea de ensayo (TL) y la otra a la línea de control (CL). Independientemente de la intensidad de color de la TL el resultado debe considerarse positivo.

**Negativo:** cuando sólo se observa una banda de color rojo púrpura correspondiente a la línea de control (CL).

**Inválido:** cuando no se observan bandas o sólo se observa una banda correspondiente a la línea de ensayo (TL). En este caso la prueba debe repetirse ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el Manual de instrucciones del kit.

**Importante:** Toda banda que pueda aparecer pasados los 10 minutos no tendrá valor diagnóstico.

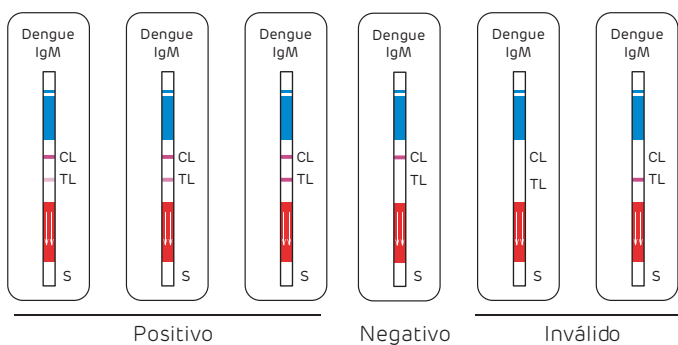


Figura 3: Interpretación de los resultados.

## Evaluación de desempeño

### Evaluación de la sensibilidad (Se) y especificidad (Sp) diagnóstica

Para determinar la Se y Sp diagnóstica del kit CHEMSTRIP® Dengue 2.0 se analizaron muestras de suero positivas y negativas. Las muestras de suero positivas (n=143) fueron obtenidas de pacientes infectados durante los brotes ocurridos en los años 2016 y 2020 y cedidas

por el Laboratorio de Virología del Hospital Gutiérrez. Todas estas muestras resultaron positivas para el ensayo Dengue IgM capture Dx Select de FOCUS Diagnostics (MAC ELISA) y fueron obtenidas de pacientes con más de 5 días de evolución febril motivo por el cual no se ensayaron para NS1. El grupo de muestras negativas incluyó 160 muestras de suero obtenidas de individuos sanos donantes de sangre (Fundación Hemocentro de Buenos Aires) y 37 muestras de plasma (heparina) MAC ELISA negativas también cedidas por el Laboratorio de Virología del Hospital Gutiérrez.

A partir de los resultados obtenidos se determinó que:

1. De las 143 muestras positivas por MAC-ELISA, con el kit CHEMSTRIP® Dengue 2.0, 136 resultaron

positivas y 7 negativas lo que determina una Se diagnóstica del del 95,1%. Además, para 60 de estas muestras se analizaron en paralelo las muestras de plasma (obtenidas con heparina). En todos los casos se obtuvo el mismo resultado con ambos tipos de muestra demostrando que el uso de plasma, en este caso obtenido con heparina, no cambia el desempeño del ensayo.

2. De las 160 muestras de suero potencialmente negativas (dado que provienen de bancos de donantes de sangre y no fueron analizadas por MAC-ELISA), 149 muestras resultaron negativas y 11 positivas por CHEMSTRIP® Dengue 2.0, lo que determina una Sp no menor al 93,1%. Además, se analizaron 37 muestras de plasma MAC ELISA negativas de las cuales 35 resultaron negativas por CHEMSTRIP® Dengue 2.0 y 2 positivas lo que determina una Sp diagnóstica para este tipo de muestras del 94,6%.

### Análisis de la capacidad de detección de CHEMSTRIP® Dengue 2.0 en etapas tempranas de la infección

Para evaluar la capacidad de detección del kit CHEMSTRIP® Dengue 2.0 en etapas tempranas de la infección se analizaron 100 muestras de suero NS1 positivas obtenidas de pacientes con hasta cinco días de evolución (razón por la cual, y como lo establece el algoritmo actual de diagnóstico, no se les había realizado la prueba de IgM). De la totalidad de las muestras, 80 muestras resultaron positivas y 20 negativas lo que determina que con el kit CHEMSTRIP® Dengue 2.0 es posible detectar la infección en etapas tempranas con una sensibilidad del 80%. Estos resultados demuestran que, aún sin realizar la prueba de detección de NS1, con el kit CHEMSTRIP® Dengue 2.0 es posible detectar el 80% de los casos con hasta 5 días de evolución y más del 95% de los casos con 5 o más días de evolución.

### Evaluación del efecto de la matriz

Los diferentes tipos de matriz (sangre entera capilar, sangre entera venosa, plasma, suero) y anticoagulantes (heparina y citrato de sodio) no afectan el resultado de la prueba.

## Limitaciones del test

1. Esta prueba detecta la presencia de anticuerpos contra el virus del dengue (DENV) en la muestra y no

debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de la infección por DENV.

2. En infecciones tempranas y algunas infecciones secundarias, los niveles detectables de anticuerpos IgM pueden ser bajos. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos dentro de los primeros 7 a 10 días después de la infección. Si los síntomas clínicos persisten, los pacientes deben volver a analizarse 3 a 4 días después de la primera muestra.

3. La reactividad cruzada serológica en el grupo de los Flavivirus (Dengue virus, St. Louis encephalitis, Japanese encephalitis, West Nile y Yellow Fever virus) es común.

4. Los resultados deben considerarse junto con toda la información clínica disponible del paciente.

5. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas de seguimiento adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de una infección temprana por el virus del dengue.

6. El procedimiento, las precauciones y la interpretación de los resultados de esta prueba deben seguirse estrictamente según lo indicado en el manual de instrucciones.

## Advertencias

-Para uso exclusivo profesional.

-Mantener fuera del alcance de los niños y animales domésticos. Centro Nacional de Intoxicaciones: Tel. 0800-333-0160.

## ANMAT

-Autorizado por ANMAT PM 2360-07. Chemtest Argentina S.A. Legajo N° 2360.

-Director Técnico: Andrés E. Ciocchini.

## Para asistencia técnica

Ante cualquier consulta por favor contactar al tel (+54 11) 5353 6066 o a través de info@chemtest.net / chemtest.net