



ImmunoComb® II

Dengue IgM&IgG BiSpot



Código: 60483002

Formato: 3 x 12 pruebas

Para uso diagnóstico in vitro solamente.

Uso Previsto

El kit **ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot** es una prueba para la detección simultánea y cualitativa de anticuerpos IgM e IgG contra el virus del **Dengue** en suero o plasma humano, diferenciando entre infección primaria y secundaria. Treinta y seis pruebas pueden ser realizadas con un kit.

Introducción

La fiebre de Dengue (FD), es una infección producida por un mosquito y es el principal problema epidemiológico a nivel mundial y de salud pública que afecta las regiones tropicales y subtropicales alrededor del mundo, predominantemente en áreas urbanas y semiurbanas. Más de la mitad de la población mundial está bajo el riesgo de la infección de Dengue. El virus del Dengue es un arbovirus perteneciente al género *Flavivirus*. Cuatro distintos serotipos del virus están relacionados antigénicamente, y han sido definidos como Dengue-1, -2, -3 y -4.

El virus es transmitido por dos vectores (mosquitos) el *Aedes aegypti* y el *Aedes albopictus*.

La forma de fiebre de Dengue de la enfermedad, comunmente observada en la infección primaria, se caracteriza por un inicio con fiebre alta, cefalea frontal, dolor retro-orbital y mialgias. Esta fase se presenta frecuentemente con rasquiña, dolor oseo o de las coyunturas y muscular, náusea, vómito y linfadenopatía. La fase aguda de la enfermedad puede durar hasta una semana, con una convalecencia prolongada por varias semanas. La infección secundaria está frecuentemente asociada con la forma hemorrágica de la enfermedad (FDH). FDH se observa comunmente en niños, pero también aparece en adultos. Esta se caracteriza por cuatro manifestaciones clínicas principales: fiebre alta, fenómeno hemorrágico, frecuentemente con hepatomegalia y en casos severos, signos de falla circulatoria. En casos más severos estos pacientes pueden desarrollar shock hipovolémico llevando a una pérdida de plasma. Este es conocido como Síndrome de Shock de Dengue (DSS), el cual puede ser rápidamente fatal.

La respuesta inmune durante la infección primaria de Dengue se caracteriza por un aumento de los anticuerpos IgM al 5th día después de iniciados los síntomas y puede persistir por tres meses. Los anticuerpos IgG aparecen dos semanas después de la infección y persisten por muchos años. La respuesta inmune a la infección secundaria se caracteriza por un aumento de IgG dentro del primer y segundo día

después de iniciados los síntomas, mientras que los anticuerpos IgM se producen 20 días después.

Los métodos serológicos han sido desarrollados para evaluar la confirmación del laboratorio en la infección por Dengue. La prueba de inhibición de la hemaglutinación (HAI) ha sido tradicionalmente usada para diferenciar entre infección de Dengue primaria y secundaria, donde el título de HAI 1:2560 es definido como un punto de corte para la infección secundaria. Sin embargo, la prueba HAI tiene varias limitaciones incluidas las dificultades para estandarizarla, pretratamiento de muestras, necesidad de reunir muestras de sueroneed for paired serum specimens and inapplicability for primary infection diagnosis.

La utilización del sistema ImmunoComb® en detección simultánea de Dengue IgM e IgG provee un diagnóstico presuntivo de la infección de Dengue, incluida la diferenciación entre infección primaria y secundaria de una sola muestra de suero o plasma.

Principio de la Prueba

La prueba **ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot** es un ensayo inmunoenzimático indirecto de fase sólida (EIA), basado en el principio de inmunocaptura. La fase sólida es un peine con 12 proyecciones ("dientes").

Cada diente está sensibilizado en tres posiciones:

Punto superior – albúmina de suero bovino biotinilada (Control interno)

Punto Medio - anticuerpos de conejo anti IgG humana

Punto inferior – anticuerpos de conejo anti IgM humana.

La bandeja de desarrollo tiene 6 filas (A-F) de 12 pocillos, cada fila contiene una solución reactiva lista para ser usada en cada etapa del ensayo. La prueba es realizada en etapas, pasando el peine de una fila a otra, con un período de incubación en cada etapa.

Para comenzar la prueba, las muestras de suero o plasma son agregadas al diluyente en los pocillos de la fila A de la bandeja de desarrollo. Luego se inserta el peine en los pocillos de la fila A. La IgM e IgG serán capturadas, respectivamente, por los anticuerpos anti-IgM y anti-IgG en los puntos inferior y medio del diente de la fila A (Figura 1). En la fila B, los anticuerpos anti-Dengue IgM e IgG capturados en los puntos inferior y medio del diente reaccionarán con los antígenos de Dengue. En la fila C, los antígenos de Dengue capturados sobre los dientes, reaccionarán con anticuerpos anti Dengue biotinilados. En la fila D el complejo antígeno/anticuerpo biotinilado en los puntos inferior y medio del diente, y la albúmina de suero bovino biotinilada en el punto superior (Control Interno), reaccionará con la estreptavidina marcada con fosfatasa alcalina (FA). En la fila E los compuestos no unidos son removidos mediante un lavado. En la fila F, la Fosfatasa Alcalina unida reaccionará con los componentes cromogénicos. Los resultados son visibles como puntos azul grisáceos en la superficie de los dientes del peine.

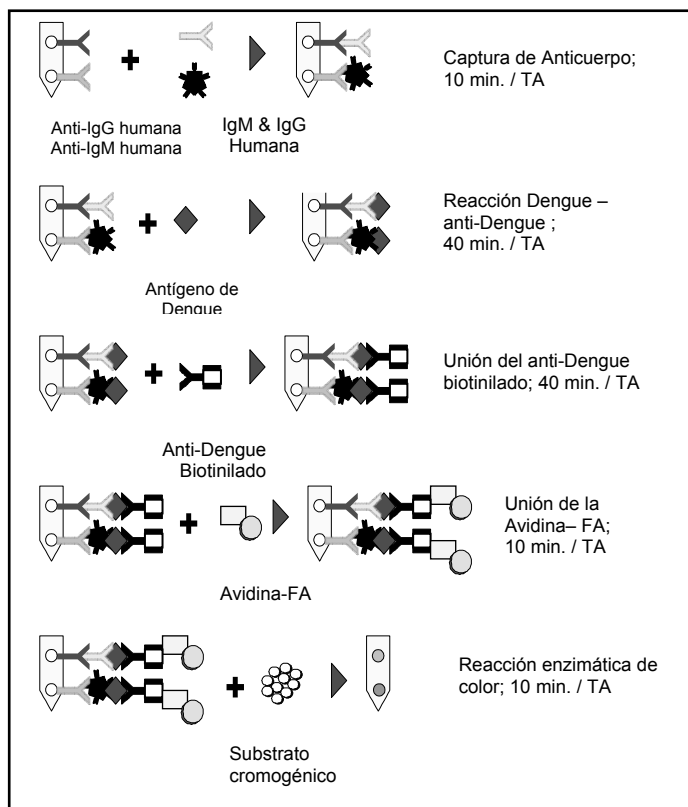


Figura 1. Principio de la Prueba

El kit incluye un Control Positivo (anti-Dengue IgM e IgG) y un Control Negativo, que deben incluirse cada vez que se realiza la prueba. Al término de ésta, el diente usado con el control positivo debe mostrar tres puntos de control azul grisáceo. El diente usado con el Control Negativo debe mostrar el punto superior y no mostrar el punto inferior y medio o mostrarlos tenuemente. El punto superior debe también aparecer sobre todos los otros dientes, para confirmar que el kit funciona apropiadamente y que la prueba fue realizada de manera correcta.

Contenido Del Kit

Peines

El kit contiene 3 peines plásticos. Cada peine tiene 12 dientes, un diente para cada prueba (Figura 2). Cada diente está sensibilizado en tres áreas reactivas:

Punto Superior – albúmina de suero bovino biotinilada (Control Interno)

Punto Medio – anticuerpos de conejo anti IgG humana

Punto Inferior – anticuerpos de conejo anti IgM humana

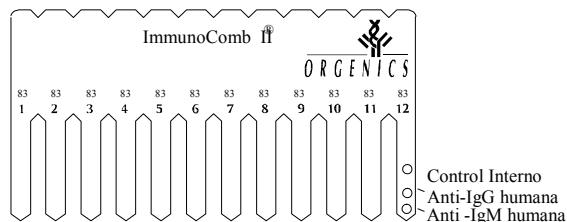


Figura 2. Peine

Los peines son suministrados en empaques de aluminio que contienen una bolsa desecante.

Bandejas de Desarrollo

El kit contiene 3 bandejas de desarrollo cubiertas con papel de aluminio. Cada bandeja de desarrollo (Figura 3) contiene todos los reactivos necesarios para la prueba. La bandeja de desarrollo contiene 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada una.

Los contenidos de cada fila son los siguientes:

| | |
|--------|--|
| Fila A | Diluyente de muestras |
| Fila B | Antígenos de Dengue |
| Fila C | Anticuerpo monoclonal biotinilado anti proteínas de Dengue. |
| Fila D | Estreptavidina conjugada con fosfatasa alcalina |
| Fila E | Solución de lavado |
| Fila F | Solución de sustrato cromogénico que contiene 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y nitro azul tetrazolio (NBT) |

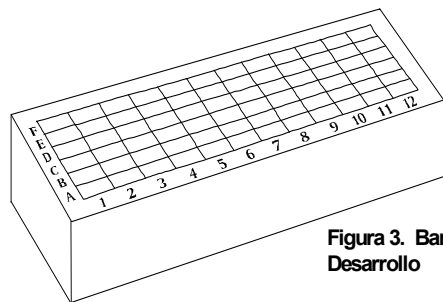


Figura 3. Bandeja de Desarrollo

Control Positivo – 1 frasco (tapa roja) de 0.15 ml de plasma humano diluido inactivado con calor, positivo para anticuerpos anti-Dengue IgM e IgG.

Control Negativo – 1 frasco (tapa verde) de 0.15 ml de plasma humano diluido inactivado con calor, negativo para anticuerpos del virus de Dengue.

CombScale™ – Para lectura de los resultados de la prueba

Perforador – Para perforar el papel de aluminio que cubre los pocillos de la Bandeja de desarrollo.

Seguridad y precauciones

- Todos los materiales de origen humano usados en la preparación del kit pasaron pruebas que demostraron que no son reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, y anticuerpos anti HIV y anti HCV. Ya que ningún método puede

garantizar por completo la ausencia de contaminación viral, todas las soluciones de referencia y todas las muestras deben ser manejadas como si fueran potencialmente infecciosas.

- Use guantes quirúrgicos y ropa de laboratorio. Siga los procedimientos de laboratorio aceptados para el trabajo con suero o plasma humano.
- No pipetee con la boca.
- Deseche todas las muestras, peines usados*, Bandejas de Desarrollo, y otros materiales usados con el kit como desechos biocontaminantes.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes.
- No use el kit después de la fecha de vencimiento.

Conservación y estabilidad del kit

- El kit es enviado a 2-8°C. Durante el transporte el kit puede ser conservado a menos de 30° C durante cortos períodos de tiempo que no excedan de 48 horas. Los controles internos indican que el kit no ha sido dañado durante el transporte.
- Conservar el kit en su caja original a 2-8°C.
- No congelar el kit.
- Después de abrir el kit inicialmente, los componentes deben ser conservados a 2-8°C.
- El funcionamiento del kit después de su apertura inicial, es estable hasta la fecha de caducidad del mismo si se conserva a 2-8°C.
- Después del uso inicial, el peine y la bandeja de reactivos no pueden ser utilizados más de tres veces.

Manejo de las Muestras

- Es posible usar suero o plasma en la prueba.
- Las muestras pueden ser almacenadas por 7 días a temperaturas de 2° a 8°C antes de la prueba. Para almacenar las muestras por más de 7 días, congélelas a -20°C o a temperaturas más bajas.
- Después de descongelar las muestras de suero, centrifúguelas. Use el sobrenadante para la prueba. Evite congelar y descongelar repetidamente.
- Los anticoagulantes como heparina, EDTA y citrato sódico no han mostrado tener efecto sobre los resultados del test.

Procedimiento de la Prueba

Equipo Necesario

- Pipetas de precisión con puntas desechables con capacidad de 10 µl, 25 µl y 100 µl
- Tijeras
- Cronómetro de laboratorio
- Microtubos o microtituladores en tira

Preparación de la Prueba

Deje todos los componentes, peines, reactivos y muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente.

Preparación de la Bandeja de Desarrollo

1. Incube la Bandeja de Desarrollo en una incubadora a 37°C por 30 minutos; o deje a temperatura ambiente (22-26°C) por 3 horas.
2. Cubra la mesa de trabajo con papel absorbente, para ser desechado como desecho biocontaminante al concluir la prueba.
3. Mezcle los reactivos sacudiendo la bandeja de desarrollo unas pocas veces.

Nota: No retire la cubierta de aluminio de la bandeja de Desarrollo, rómpala usando la punta desechable de la pipeta o el perforador, cuando las instrucciones de la prueba así lo indiquen.

Preparación del peine

Precaución: Para asegurar el funcionamiento apropiado de la prueba, no toque los dientes del peine.

1. Abra el empaque de aluminio por el borde perforado. Retire el peine.

* A menos que sea archivado para consulta posterior

2. Es posible utilizar todo el peine y la Bandeja de Desarrollo o una parte. Para utilizar parte del Peine:
 - a. Determine cuantos dientes va a necesitar para analizar las muestras y los controles. Se necesita un diente para cada prueba. Cada diente tiene impreso el número del código del kit, "83", para permitir la identificación de los dientes sueltos.
 - b. Doble y rompa verticalmente el Peine, o córtelo con tijeras (Ver Figura 4) para separar el número requerido para las pruebas (No. De pruebas más 2 controles).
 - c. Retorne la porción no utilizada del peine al empaque de aluminio (con la bolsa desecante). **Cierre bien el empaque**, por ejemplo con un clip, para mantenerlo seco. Almacene el peine en la caja original del kit de 2-8°C para su uso posterior.

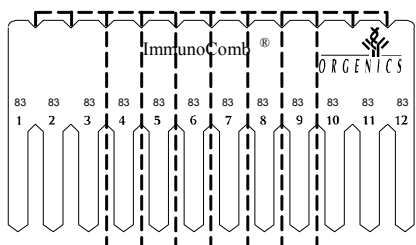


Figura 4. Fraccionamiento del Peine

Instrucciones de la Prueba

Captura de Anticuerpo (Fila A de la Bandeja de Desarrollo)

1. Pipetee 10 µl de muestra. Perfore la cubierta de aluminio de un pocillo de la fila A con la punta de la pipeta o el perforador y vacíe la muestra en el fondo del pocillo. **Mix** la solución vaciando y rellenando el pocillo repetidamente. Deseche la punta de la pipeta.
2. Repita el paso 1 para las otras muestras y los dos controles. Use un nuevo pocillo en la fila A y cambie la punta de la pipeta para cada muestra y control.
3.
 - a. Inserte el Peine (Con el lado **impreso** hacia usted) en los pocillos de la fila A que contienen las muestras y los controles.
Mezcle: Retire e inserte el peine en los pozos varias veces.
 - b. Deje el peine en la fila A e incube por 10 minutos a **temperatura ambiente**. Programe el reloj. Hacia el final de los 10 minutos, perfore el papel de aluminio en la fila B usando el perforador. No abra más pocillos de los necesarios.
 - c. Al cumplirse los 10 minutos, saque el peine de la fila A.
Absorba el líquido adherido a las puntas de los dientes apoyándolo sobre un papel absorbente limpio. No toque la superficie frontal del diente.

Reacción Antígeno-Anticuerpo (Fila B)

4. Inserte el peine en los pocillos de la fila B. **Mezcle** como en el paso 3a. Incube la bandeja de Desarrollo con el peine por 40 minutos (programe el reloj) a **temperatura ambiente**. Perfore el papel de aluminio en la fila C. Después de 40 minutos, retire el peine y **absorba el líquido adherido** como en el paso 3c.

Unión del anti-Dengue Biotinilado (Fila C)

5. Inserte el peine en los pocillos de la fila C. **Mezcle** como en el paso 3a. Incube la Bandeja de Desarrollo con el peine por 40 minutos (Programe el reloj) a **temperatura ambiente**. Perfore la cubierta de aluminio en la fila D. Después de 40 minutos, retire el peine y **absorba el líquido adherido**.

Unión de la avidina/fosfatasa alcalina modificada (Fila D)

6. Inserte el peine en los pocillos de la fila D. **Mezcle**. Incube La bandeja de Desarrollo con el Peine por 10 minutos (programe el reloj) a **temperatura ambiente**. Perfore la cubierta de aluminio en la fila E. Después de 10 minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Primer Lavado (Fila E)

7. Inserte el Peine en los pocillos de la fila E. **Agite:** Vigorosamente retire e inserte el Peine en los pocillos por lo menos 10 segundos para que quede bien lavado. Repita varias veces la agitación durante el curso de los 2 minutos; mientras tanto perfore el papel

de aluminio de la fila F. Después de 2 minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Reacción de Color (Fila F)

8. Inserte el Peine en los pocillos de la fila F. **Mezcle**. Incube la Bandeja de Desarrollo con el peine por exactamente 10 minutos (programe el reloj) a **temperatura ambiente**. Después de 10 minutos, retire el Peine.

Detención de la Reacción (Fila E)

9. Inserte el peine de nuevo en la fila E. Después de 1 minuto, retire el Peine y déjelo secar al aire.

Eliminación de Desechos

Deseche las bandejas de Desarrollo usadas, puntas de pipetas, microtubos o tiras microtituladoras, papel absorbente, y guantes como desechos biocontaminantes.

Almacenamiento de las partes no Usadas del Kit

Bandeja de Desarrollo

Si no usó todos los pocillos de la Bandeja de Desarrollo, puede almacenarla para ser utilizada posteriormente:

- Selle los pocillos usados con cinta adhesiva ancha a fin de que nada se derrame fuera de los pocillos, incluso en caso de que la Bandeja de Desarrollo sea volcada.

Otros materiales del Kit:

- Vuelva a colocar la Bandeja (s) de Desarrollo, Peines(s), perforador, controles, diluyente de muestras, e instrucciones en la caja original del kit. Almacene de 2°-8°C.

Resultados de la Prueba

Validación

A fin de confirmar el funcionamiento correcto de la prueba y demostrar que los resultados son válidos, deben cumplirse las siguientes tres condiciones (Ver Figura 5):

1. El Control **Positivo** debe producir **tres** puntos sobre el diente del peine.
2. El Control **Negativo** debet producir un punto superior (Control Interno). El punto inferior y medio deben no aparecer o aparecer tenuemente, sin afectar la interpretación de los resultados.
3. Cada **muestra analizada** debe producir un punto **superior** (Control Interno).

Si cualquiera de las tres condiciones no se cumple, los resultados son inválidos, y las muestras y los controles deben ser reexaminados.

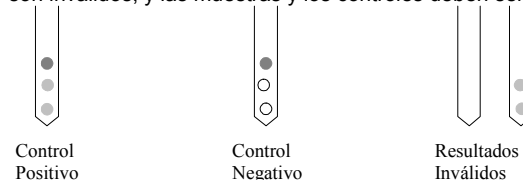


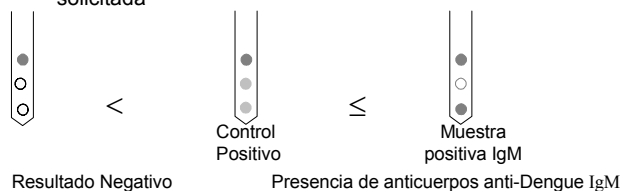
Figura 5. Validación de la Prueba

Lectura e Interpretación de los Resultados

Interpretación Visual de Dengue IgM

Compare la intensidad del punto **inferior** de cada diente de la muestra con la del punto **inferior** del diente del control positivo (Figura 6).

- Un punto con una intensidad mayor que o igual a la del control positivo indica un resultado **positivo** de la muestra.
- **La ausencia** de punto o un punto con una intensidad **menor** que la del Control Positivo indica la ausencia de anticuerpos anti-Dengue IgM en la muestra (Resultado Negativo).
- Las muestras dudosas deben ser reexaminadas. Si la interpretación continúa dudosa, una nueva muestra debe ser solicitada



Presencia de anticuerpos anti-Dengue IgM

Figura 6. Resultados Lectura con el CombScale™ e interpretación del Dengue IgG

La presencia específica de anti-Dengue IgG en cada muestra puede ser evaluada comparando la intensidad de color del punto **medio** en cada diente, con la escala de color en el CombScale™ que viene incluido en el kit. Este es realizado de la siguiente manera (Figura 7):

1. Calibre el CombScale™. Coloque el punto **medio** del diente del **Control Positivo** debajo de la intensidad de color más similar a la intensidad de color del color scale. Ajuste la regla hasta que aparezca la lectura C+ en la ventanilla sobre la intensidad de color seleccionada.
2. Lea los resultados sin cambiar la posición calibrada de la regla. Compare la intensidad de color de cada punto **medio** con la intensidad de color más similar en la escala de color.

Cualquier punto **medio** con una intensidad de color igual o mayor que la intensidad de la escala de debajo de "CO" en la ventana debe ser considerado como positivo para Dengue IgG.

En ausencia de IgM positiva, cualquier punto **medio** con una intensidad de color mayor que "CO", pero menor que "C+" debe ser considerada como **negative – no hay evidencia de presencia de infección**.

Una intensidad de color del punto **medio** similar o mayor que "C+" puede ser usado como un indicador de **Infección Secundaria de Dengue**.

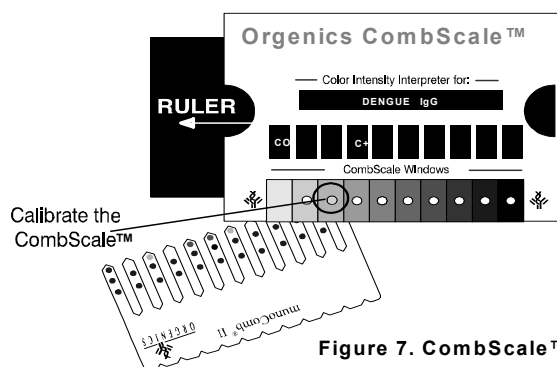


Figure 7. CombScale™

Resumen de la Interpretación de los Resultados

| | Presencia de: | | Interpretación |
|-------------------|---------------|-------------|---|
| | IgM | IgG | |
| CombScale™ Visual | < C+ | < CO | No Hay evidencia de infección por Dengue. |
| CombScale™ Visual | < C+ | CO ≤ S < C+ | No hay evidencia de infección por Dengue. |
| CombScale™ Visual | ≥ C+ | < CO | Puede indicar infección primaria de Dengue. |
| CombScale™ Visual | ≥ C+ | CO ≤ S < C+ | Puede indicar infección primaria de Dengue. |
| CombScale™ Visual | < C+ | ≥ C+ | Puede indicar infección secundaria de Dengue. |
| CombScale™ Visual | ≥ C+ | ≥ C+ | Puede indicar infección secundaria de Dengue. |

Documentación de Resultados

Puesto que el desarrollo de color en el peine es estable, el peine puede ser almacenado para documentación posterior.

Limitaciones

Al igual que otras pruebas ideadas para ser usadas en diagnóstico in vitro, los resultados de esta prueba deben ser evaluados en relación a la sintomatología, la historia clínica y otros parámetros de laboratorio del paciente.

Características del Ensayo*

A. Sensibilidad

Un estudio realizado con 365 muestras positivas para Dengue obtenidas de diferentes centros de salud en áreas endémicas en América Latina (Colombia, Guatemala y Venezuela) y en las Filipinas. Los resultados son detallados en la Tabla 1.

Tabla 1. Sensibilidad del Kit ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot

| Origen | Número de la Muestra | Definido como positivo para: | | Detectado por ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot | | |
|----------------|----------------------|------------------------------|-----|--|-----|---------|
| | | IgG | IgM | IgG | IgM | IgG+IgM |
| América Latina | 324 | 304 | 213 | 302 | 207 | 320 |
| Filipinas | 41 | 40 | 34 | 39 | 34 | 41 |
| Total | 365 | 344 | 247 | 341 | 241 | 361 |

Sensibilidad General:

Para IgG: 99.1%

Para IgM: 97.5%

Para IgG + IgM: 98.9%

B. Especificidad

Un estudio realizado con 669 muestras negativas para Dengue incluyendo muestras obtenidas de donantes de sangre sanos con alta y baja prevalencia para Dengue, mujeres embarazadas, enfermedades no infecciosas (cáncer y enfermedades autoinmunes) y enfermedades infecciosas, tales como VIH, VHC and VHB y pacientes con anticuerpos para otros flavivirus (Encefalitis Japonesa, Fiebre Amarilla, Virus de Nilo Occidental). Los resultados son detallados en la Tabla 2.

Tabla 2. Especificidad del kit ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot

| Muestras | Número | Negativo por ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot | Especificidad (%) |
|-----------------------------|--------|---|-------------------|
| Donantes de Sangre Sanos | 312 | 310 | 99.3 |
| Mujeres Embarazadas | 98 | 95 | 96.9 |
| Enfermedades No infecciosas | 112 | 109 | 97.3 |
| Enfermedades Infecciosas | 110 | 106 | 96.3 |
| Flavivirus | 37 | 35 | 94.6 |
| Total | 669 | 655 | 97.9 |

La especificidad general del kit es de: 97.9%

Valor predictivo positivo:

Para IgG: 91.4%

Para IgM: 91.4%

Valor predictivo negativo:

Para IgG: 100%







Para IgM: 96.8%


Bibliography

- **Gubler DJ.** 1998. Dengue and Dengue hemorrhagic fever. Clin. Microbiol. Rev. 11(3):480-496.
- **Guzman MG and Kouri G.** 1996. Advances in Dengue diagnosis. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 3:621-627.
- **Innis BL et al.** 1989. An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize Dengue infections where Dengue and Japanese Encephalitis co-circulate. Am. J. Trop. Med. Hyg. 40(4):418-427.
- **Lam SK.** 1995. Dengue hemorrhagic fever. Rev. Med. Microbiol. 6:39-48.
- **World Health Organization.** 1997. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. WHO publications, Geneva, Switzerland.

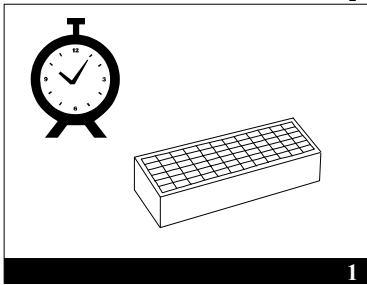
* Datos detallados disponibles

Leyenda De Los Símbolos

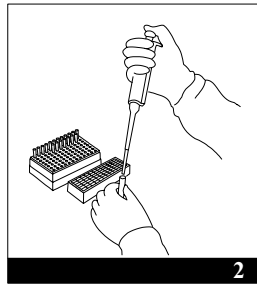
| | |
|--|--|
| CARD | ImmunoComb® tarjeta |
| PLATE | Bandejas de Desarrollo |
| CONTROL + | Control Positivo |
| CONTROL - | Control Negativo |
| PERFORATOR | Perforador |
| COMBSCALE | CombScale™ |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Atención, ver instrucciones de uso |
| IVD | Producto sanitario para diagnóstico in vitro |
|  | Límite de temperatura |
|  | Contenido suficiente para n ensayos |
|  | Fabricante |
| EC REP | Representante autorizado en la Comunidad Europea |
| REF | Número de catálogo |
| LOT | Código de lote |
|  | Fecha de caducidad |
| SN | Número de serie |

| | |
|--|---|
| <p>Fabricante :</p>  <p>ORGENICS</p> <p>Orgenics Ltd., part of the Inverness Medical Innovations Group. P.O.B 360 Yavne 70650, Israel Tel: ++ 972 8 942 92 01 Fax: ++ 972 8 943 87 58</p> | <p>Representante autorizado en UE:</p> <p>Orgenics France S.A. 19, rue Lambrechts 92400 Courbevoie, France Tel: +33-1 41 99 92 90 Fax: +33-1 41 99 92 95</p> <p>Version: 60483002/S8/OR (05/2007)</p> |
|--|---|

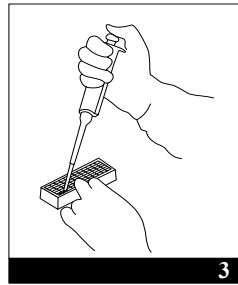
Resumen De Los Principales Procedimientos De La Prueba



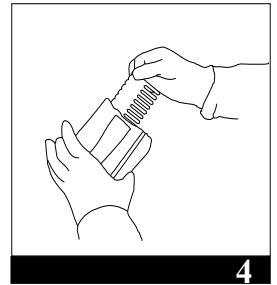
1
Preincubación de la Bandeja de Desarrollo: 30 minutos a 37°C.



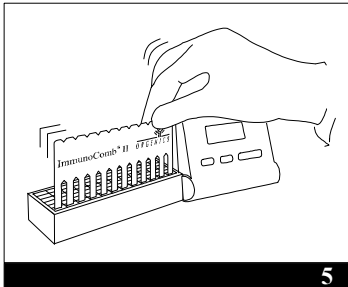
2
Tomar las muestras y controles.



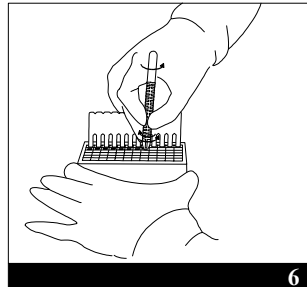
3
Agregar muestras y controles en la fila A.



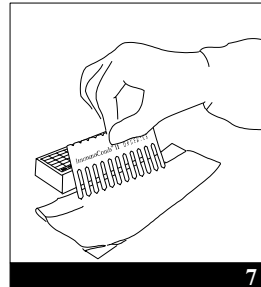
4
Sacar el peine del empaque.



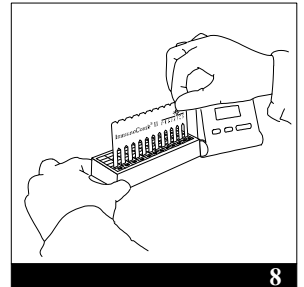
5
Insertar el peine en la fila A y mezclar. Incubar a TA.



6
Perforar la fila B.

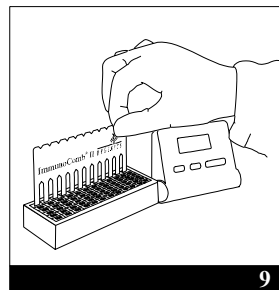


7
Absorber el líquido adherido a los dientes.

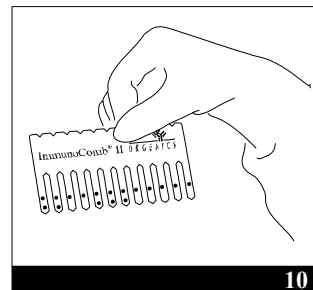


8
Insertar peine y agitar en la fila B. Incubar.

Después de mezclar/agitar e incubar en las filas C, D y E ...



9
Reacción de color en la fila F.



10
Resultados

Resumen del procedimiento de la prueba a ure

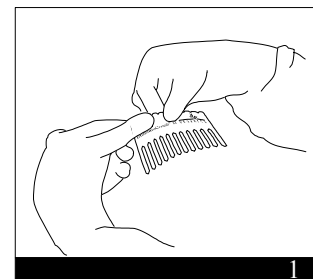
Las instrucciones abreviadas de abajo son para usuarios experimentados del kit de **ImmunoComb® II Dengue IgM&IgG BiSpot**.

(Para instrucciones detalladas por favor referirse al texto completo en el interior)

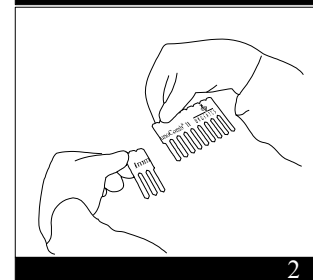
1. Deje todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente.
2. Dispense 10 µl de cada muestra y controles en los pocillos de la fila A de la Bandeja de Desarrollo.
3. Inserte el peine en la fila A mezcle, y continúe como se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Resumen del Procedimiento de la Prueba

| Etapa Indica | Fila | Proceda como se indica |
|---|------|---|
| Captura de Anticuerpo | A | Mezcle; incube 10 minutos a TA; absorba |
| Reacción Antígeno-anticuerpo | B | Mezcle; incube 40 minutos a TA; absorba |
| Unión del anti-Dengue biotinilado | C | Mezcle; incube 40 minutos a TA; absorba |
| Unión de la avidina/fosfatasa alcalina modificada | D | Mezcle; incube 10 minutos a TA; absorba |
| Lavado | E | Agite; incube 2 minutos; absorba |
| Cromógeno | F | Mezcle; incube 10 minutos a TA |
| Detención de la reacción | E | Incube 1 minuto; seque al aire |



1



2

Manera de romper el peine