

USO INDICADO

DENGUE NS1 Ag en cassette es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa del antígeno NS1 del virus del Dengue en Sangre entera, suero o plasma como ayuda en el diagnóstico de Infección de Dengue primaria y secundaria.

INTRODUCCION

El virus del Dengue se transmite por el mosquito *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, ampliamente distribuidos a través de áreas tropicales y subtropicales del mundo. Existen cuatro serotipos conocidos (DENV 1, 2, 3 y 4) En niños, la infección es a menudo sub-clínica o con enfermedad febril limitada. Sin embargo, segundas infecciones con otros serotipos pueden desencadenar una enfermedad más severa, fiebre del dengue hemorrágico o síndrome de shock por dengue. El dengue es considerado el más importante de los virus transmitidos por artrópodos debido a la morbilidad y mortalidad que provoca.

NS1 es una glicoproteína altamente conservada que está presente en altas concentraciones en el suero de pacientes infectados por Dengue durante la fase clínica temprana de la enfermedad. El antígeno NS1 se encuentra desde el primer día y hasta 9 días después del comienzo de la fiebre en muestras de pacientes infectados por Dengue primario o secundario.

La prueba rápida Dengue NS1 Ag (sangre entera/suero/plasma) es un test rápido que utiliza anticuerpos anti-Dengue NS1 Ag recubiertos con partículas coloreadas para la detección de antígeno NS1 de Dengue en sangre entera, suero o plasma humanos.

PRINCIPIO

La prueba rápida Dengue NS1 Ag (sangre entera/Suero/plasma) es un inmunoensayo cualitativo de membrana para la detección de antígeno NS1 del Dengue en sangre entera, suero y plasma humano. Durante el testeo, la muestra reacciona con el anticuerpo anti-dengue NS1 marcado con partículas coloreadas en la tira. El complejo migra por acción capilar a través de la membrana para reaccionar con el anticuerpo de captura anti-dengue NS1 en la región de la línea de prueba. Si el Antígeno NS1 se encuentra en la muestra, una línea coloreada aparecerá en la zona de la línea de prueba. Si la muestra no contiene Antígeno NS1, no se formará una línea coloreada, indicando un

resultado negativo. Para que sirva como control de procedimiento, siempre deberá aparecer una línea coloreada en la región de control, indicando que el volumen de muestra es adecuado y la absorción en la membrana ha ocurrido.

MATERIALES

Materiales suministrados

Caja conteniendo:

- 1 inserto
- 40 Cassettes individualmente envasados
- 40 Pipetas descartables
- 1 frasco con Buffer

Material requerido no suministrado

- Cronómetro
- Recipiente recolector de muestra
- Centrifuga
- Lancetas

ADVERTENCIAS

- Para uso profesional in vitro solamente. No utilice el dispositivo luego de su fecha de vencimiento.
- No ingerir alimentos, bebidas o fumar en el área donde se manipulen muestras o reactivos.
- No utilice el test si el envase se encuentra dañado.
- Maneje todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones a tomar en caso de peligros microbiológicos a lo largo del test y siga los procedimientos estándar para el desecho apropiado de las muestras.
- Use ropa de protección como guardapolvo, guantes descartables y protección para la vista cuando manipule muestras que estén siendo examinadas.
- El test debe ser desechado de acuerdo a las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El dispositivo debe ser almacenado a 2-30°C hasta la fecha de vencimiento impresa en el sobre sellado.
- El test debe permanecer en su sobre sellado hasta su uso.
- NO CONGELAR

- Se deberá tener especial cuidado para proteger los componentes del test de cualquier riesgo de contaminación. No usar si existiera evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del equipo dispensador, contenedor o reactivo puede llevar a falsos resultados.
- El dispositivo de examinación rápida de Dengue (Sangre/suero y plasma) es estable por 24 meses desde la fecha de fabricación siempre y cuando sea almacenado de manera apropiada y se mantenga cerrado su sobre de aluminio con el secante interno.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- La prueba rápida DENGUE NS1 Ag están indicados para ser utilizados en sangre entera, suero y plasma humano solamente.
- Se recomienda utilizar solamente muestras claras no hemolizadas con estos tests. El suero o plasma deberá ser separado tan pronto como sea posible para evitar hemólisis.
- Realice el test inmediatamente luego de la recolección de muestra. No deje muestras a temperatura ambiente por períodos prolongados. Muestras de suero o plasma deberán ser almacenadas a 2-8°C por hasta 3 días. Para almacenamiento a largo plazo deberá mantener las muestras de suero o plasma a -20°C. La sangre recolectada por medio de venipuntura deberá almacenarse a 2-8°C si el test se correrá en los dos días posteriores a la recolección. No congelar muestras de sangre. La sangre recolectada de la yema del dedo debe ser examinada inmediatamente.
- Los tubos que contienen anticoagulantes como EDTA, citrato o heparina deben ser usados para el almacenamiento de sangre.
- Deje que las muestras alcancen temperatura ambiente, previa a la examinación. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y bien mezcladas antes de ser examinadas. Evite re-congelar y descongelar las muestras.
- Si las muestras deben enviarse, envase de acuerdo a las regulaciones de transporte y de agentes etiológicos.
- Suero icterico, lipemico, hemolizado, tratado con calor y contaminado será causa de resultados erróneos.

PROCEDIMIENTO

Lleve las pruebas, las muestras, el buffer y/o los controles a temperatura ambiente (15-30 C°) antes de su uso.

1. Retire la prueba de su bolsa sellada y colóquela en una superficie limpia y nivelada. Etiquete el dispositivo con la identificación del paciente o como control. Para obtener mejores

resultados, el ensayo debe realizarse dentro de una hora.

2. Transfiera 3 gotas de suero / plasma (aproximadamente 75 µl) al pocillo de la muestra (S) del dispositivo con la pipeta desechable proporcionada, y encienda el temporizador.


O


Permita que 2 gotas de sangre total (aproximadamente 50 µl) caigan en el centro del pocillo de la muestra del dispositivo de prueba, luego agregue 1 gota de buffer e inicie el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el pocillo (S) y no agregue ninguna solución al área de resultados. A medida que la prueba comience a funcionar, el color migrará a través de la membrana.


3. Espere a que aparezcan las bandas de color. El resultado debe leerse en 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para Test Dengue NS1 Ag

C T  **POSITIVO:** Aparecen dos bandas coloreadas en la membrana. Una banda aparece en la región de control (C) y otra banda aparece en la región de examinación.(T)

C T  **NEGATIVO:** Una sola banda coloreada aparece en la región de control (C) No aparecen bandas coloreadas en la región de examinación (T)

C T  **INVALIDO:** Las bandas de control no aparecen. Los resultados de cualquier test que no haya producido una banda de control durante el tiempo específico de lectura deben ser desechados. Por favor revise el procedimiento y repita con un nuevo test. Si el problema persiste, discontinuar el uso del dispositivo inmediatamente y contáctese con el distribuidor local.

NOTA:

1. Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de antígeno de virus de Dengue NS1 presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo o los antígenos que son detectados no están presente durante el estadio de la enfermedad en la cual la muestra es recolectada.
2. Un resultado negativo no puede excluir una infección reciente.
3. La presencia del Ag NS1 del virus del Dengue puede significar

positivo para infección temprana de Dengue. Como con todos los test de diagnóstico los resultados deben ser considerados con otra información clínica disponible por el médico.

CONTROL DE CALIDAD

Control de Calidad Interno:

Los controles de procedimiento están incluidos en la prueba. Una línea coloreada aparecerá en la región de la línea de control (C) el cual es un control interno de procedimiento. Esto confirma un volumen de muestra suficiente y un procedimiento correcto.

Control de Calidad Externo:

Este kit no proporciona controles externos. Como buena práctica de laboratorio se recomienda el uso de materiales de control para verificar el funcionamiento apropiado del kit.

LIMITACIONES

- La prueba rápida Dengue NS1 Ag es solo para uso de diagnóstico in vitro.
- Debe usarse para la detección del antígeno Dengue NS1 solo en muestras de sangre, suero o plasma.
- La prueba rápida Dengue NS1 solo indicará la presencia de antígeno dengue NS1 en la muestra y no se debe usar como el único criterio para el diagnóstico de dengue.

VALORES ESPERADOS

Es esperable la detección del NS1 Ag 1 día después de la aparición de la fiebre y que persista hasta 9 días en la infección por dengue primario y secundario. Pero si se producen anticuerpos anti-NS1 Ag, la detección de NS1 Ag se inhibe.

PERFORMANCE

Sensibilidad clínica, especificidad y precisión:

La prueba rápida Dengue NS1 Ag (sangre, suero y plasma) ha sido evaluado con muestras obtenidas de una población de individuos sintomáticos y asintomáticos. Los resultados fueron confirmados por medio de cultivos. Los resultados se presentan en la tabla:

| Prueba rápida Dengue NS1 Ag | Cultivo | | Total |
|-----------------------------|----------|----------|-------|
| | Positivo | Negativo | |
| Positivo | 104 | 3 | 107 |
| Negativo | 8 | 186 | 194 |
| Total | 112 | 189 | 301 |

Sensibilidad Relativa: $104 / (104+8) = 92,8\%$

Especificidad Relativa: $186 / (186+3) = 98,4\%$

Acuerdo General: $(104+186) / (104+8+186+3) = 96,3\%$

Precisión

-Intra-ensayo: Se ha determinado mediante el uso de 10 repeticiones de muestras negativas y positivas. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

-Inter-ensayo: La precisión entre corridas ha sido determinada por 10 ensayos independientes en muestras negativas y positivas. Se han probado tres lotes diferentes de dispositivo de prueba rápida Dengue NS1 Ag (sangre total / suero / plasma) utilizando estas muestras. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

BIBLIOGRAFIA

1. Pryor MJ, Wright PJ. The effects of site-directed mutagenesis on the dimerization and secretion of the NS1 protein specified by dengue virus. *Virology* 1993; 194:768-80
2. SHU, P., HUANG, J. Current advances in dengue diagnosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004 Jul; 11(4):642-50.
3. Alcon S., Talamin A., Debryne M., Falconar A., Deubel V., Falmand 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 Groen et al. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue-virus specific immunoglobulin M and G Antibodies. *Clin.*

IMPORTADOR/ ACONDICIONADOR

MONTEBIO S.R.L.

Vera 575, C.A.B.A., Argentina

Tel. Fax: 4858-0636



Autorizado por ANMAT: PM-246-50

Director Técnico: Farm. Sebastián Antonicelli MN: 14853

Condición de venta: Uso Profesional Exclusivo.

V-01