

Dengue Ag cassette



PRESENTACION			
REF	4276240	Dengue Ag	40 Tests
Sólo para uso profesional de diagnóstico <i>in vitro</i>			

Dengue Ag

Prueba rápida para la detección cualitativa de virus dengue (DEN 1,2,3,4) antígeno (Ag Dengue) en suero humano, plasma o sangre total
ONE STEP

FUNDAMENTO

El LINEAR Dengue Ag es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa del antígeno (Dengue Ag) del virus del dengue (DEN1,2,3,4) en suero, plasma humano o sangre total. Está destinado para su uso como prueba de detección y como ayuda en el diagnóstico de la infección por virus del dengue. Cualquier muestra positiva con Dengue Ag cassette debe ser confirmado con método (s) alternativo (s) de ensayo y los hallazgos clínicos.

El dispositivo de prueba consiste en: 1) una almohadilla de conjugado color burdeos, que contiene antígenos de ratón anti-Dengue conjugado con oro coloidal (conjugado Dengue Ab). 2) una tira, membrana de nitrocelulosa que contiene una banda control (banda C). La banda T está pre-recubierta con anticuerpo IgG anti-ratón de cabra. Los anticuerpos frente al antígeno del dengue reconocen los antígenos de los cuatro serotipos del virus del dengue.

Cuando un volumen adecuado de muestra se dispensa en el pocillo de muestra, la muestra migra por acción capilar a través de la membrana del cassette. Si en la muestra está presente Dengue Ag se unirá a los conjugados Dengue Ab. El inmunocomplejo es entonces capturado en la membrana por el anticuerpo de conejo pre-recubierto, formando una banda T de color borgoña, indicando un resultado positivo de Dengue Ag, a ausencia de la banda T indica un resultado negativo.

La prueba incluye un control interno (banda C) que debe exhibir una banda de color borgoña del inmunocomplejo de cabra anti-ratón IgG / ratón conjugado IgG-oro, independientemente de la banda T coloreada. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe volver a probarse con otro dispositivo.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

REF	4276240	40 Dengue Ag Rapid Test (S/P/WB)
		40 Goteros de plástico
		Diluyente de muestra 5 mL

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-30°C. El dispositivo de ensayo es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el sobre, siempre que se mantenga en el sobre bien sellado hasta su uso. **No congelar o exponer a temperaturas superiores a 30°C.** No usar una vez superada la fecha de caducidad.

RECOLECCIÓN Y PREPARACION DE MUESTRAS

Suero (EDTA, citrato o heparina) o plasma no hemolizado. Ensayar las muestras tan pronto como sea posible después de su recolección. Si no se ensayan inmediatamente, conservar a 2-8°C. Estable 5 días a 2-8°C o congelar a -20°C para almacenamiento prolongados. Evitar múltiples ciclos de congelación-descongelación. Antes del ensayo, atemperar las muestras a temperatura ambiente lentamente y mezclar suavemente. Las muestras que contengan partículas visibles deben aclararse por centrifugación antes del ensayo. No utilizar muestras que con lipemia, hemólisis grave o turbidez, con el fin de evitar interferencias en la interpretación de los resultados.

Sangre total, se pueden obtener unas gotas de sangre por punción en la punta del dedo o venopunción. Recoger la muestra de sangre en un tubo con tapón lila, azul o verde (que contiene EDTA, citrato o heparina, respectivamente, en Vacutainer®). No utilizar sangre hemolizada para la prueba. Las muestras de sangre total deben ser conservada a 2-8°C si no se ensayan de inmediato. Las muestras deben ser ensayadas dentro de las 24 horas tras su recolección.

EQUIPO ADICIONAL

- Cronómetro.

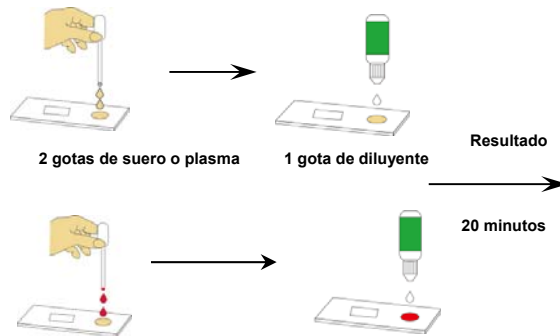
TÉCNICA

Atemperar, a temperatura ambiente (20-30°C) el dispositivo, la muestra y/o controles antes de su uso.

1. Sacar el dispositivo de la bolsa sellada, y colocarlo sobre una superficie limpia y plana. Usarlo lo antes posible.
2. Rotular el dispositivo con la identificación del paciente.
3. Llenar el gotero de plástico con la muestra.

Con el gotero en posición vertical, dispensar 2 gotas (aprox. 60 µL) de suero/plasma o 2 gotas (aprox. 70 µL) en el pocillo de muestra (S) comprobar que no haya burbujas.

Inmediatamente agregar 1 gota (30-40 µL) de diluyente de muestra en el pocillo de muestra (S) con la botella en posición vertical.



4. Poner en marcha el cronometro.
5. Leer los resultados a los 20 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir del 1 minuto. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 25 minutos.

Sin embargo, cualquier interpretación de los resultados fuera de los 20-25 min debe ser considerada inválida y la prueba debe repetirse. Después de interpretar los resultados, desechar el dispositivo según las normas locales.

NEGATIVO:

Si sólo se desarrolla la banda C, la prueba indica que el nivel de dengue Ag en la muestra es indetectable. El resultado es negativo o no reactivo.



POSITIVO:

Si se desarrollan las bandas C y T, la prueba indica que la muestra contiene dengue Ag. El resultado es positivo o reactivo.



Las muestras con resultados positivos o reactivos deben ser confirmadas con métodos de prueba y los hallazgos clínicos antes de realizar un diagnóstico positivo.



INVALIDO: Si no se desarrolla ninguna banda C, el ensayo no es válido independientemente del desarrollo del color en la banda T como se indica a continuación. Repita el ensayo con un nuevo dispositivo.



CONTROL DE CALIDAD

La prueba incluye un control de calidad interno. Cuando la prueba se realiza correctamente aparece una línea roja en el área de control (C). Esta línea confirma que se ha utilizado el volumen suficiente de muestra y que se siguieron los pasos de procedimiento correctamente.

Los Controles no están incluidos en el kit. Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba

SIGNIFICADO CLÍNICO

El virus del dengue, es un virus ARN monocatenario positivo, posee cuatro serotipos (DEN1, 2, 3, 4). Los virus se transmiten por mosquitos de la familia *Stegomyia*, principalmente el *Aedes aegypti*, y *Aedes albopictus*. Hoy, más de 2.5 billones de personas que viven en áreas tropicales de Asia, África, Australia, y América están en riesgo de infectarse por Dengue. Se estima que 100 millones de casos de fiebre del dengue y 250,000 casos de dengue hemorrágico se producen anualmente en el mundo¹⁻³.

El método más común para el diagnóstico de la infección por el virus del dengue es la detección serológica. La IgM anti-dengue comienza a aparecer 3 días después de la exposición inicial y permanece aproximadamente 30-60 días. Los niveles de IgG anti-virus dengue se elevan aproximadamente a los 7 días, alcanza el máximo a las 2-3 semanas y persiste durante toda la vida⁴⁻⁶. La detección de antígenos, como el Dengue NS1, liberados durante la replicación del virus en el paciente infectado, muestra resultados muy prometedores. Permite el diagnóstico desde el primer día después de la aparición de fiebre hasta el día 9, una vez que la fase clínica de la enfermedad termina, lo que permite un diagnóstico y tratamiento tempranos⁷

CARACTERÍSTICAS DIAGNOSTICAS

Límite de detección. LINEAR Dengue Ag. Se encontró que detecta la proteína NS1 en los 4 tipos de lisado del virus del dengue I, II, III y IV. El límite de detección es de 0,25 ng/ml determinado sobre el antígeno NS1 recombinante del dengue del serotipo 2 (DEN2).

Rendimiento clínico. Se ensayaron un total de 100 muestras de sujetos susceptibles y sujetos de normales y sanos, se ensayaron mediante LINEAR Dengue Ag y por un ensayo comercial Dengue Ag ELISA. La comparación para todos los sujetos se muestra en la siguiente tabla:

Reference Test	Dengue Ag Cassette		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	20	0	20
Negativo	1	79	80
Total	21	79	100

Sensibilidad Relativa: 100%, Especificidad relativa: 98,75%, Concordancia: 99%.

Reacción cruzada. No se observaron resultados falsos positivo en 6 a 10 muestras positivas de los siguientes estados patológicos con el LINEAR Dengue Ag:

Malaria	Chikungunya	Zika	Leishmania	Typhoid
HAV	HBV	HCV	HIV	<i>T. pallidum</i>
<i>T. gondii</i>	Rubella	CMV	HSV-1	HSV-2
tCG	<i>H. pylori</i>	TB	ANA	HAMA
RF (up to 8,400 IU/mL)				

Interferencias. Sustancias comunes (como el dolor y la fiebre, los componentes sanguíneos) pueden afectar el rendimiento. El estudio se realizó mediante la adición de estas sustancias en suero negativo y muestras positivas de suero con antígeno NS1 de los 4 serotipos (DEN1, 2, 3, 4), respectivamente. Los resultados demuestran, en las concentraciones ensayadas, que las sustancias estudiadas no afectan el rendimiento del LINEAR Dengue Ag.

Lista de sustancias potencialmente interferentes y concentraciones ensayadas:

1. Albumina	60 g/L	6. Heparina	3,000 U/L
2. Bilirrubina	20 mg/dL	7. Ácido salicílico	4.34 mmol/L
3. Creatinina	442 µmol/L	8. Sodium citrate	3.8%
4. EDTA	3.4 µmol/L	9. Human IgG	1,000 mg/dL
5. Glucosa	55 mmol/L		

LIMITACIONES

1. Seguir cuidadosamente las instrucciones de Procedimiento e Interpretación de resultados, cualquier desviación puede ocasionar resultados erróneos.
2. El ensayo es para la detección cualitativa de anticuerpos frente al antígeno NS1 de Dengue. La intensidad de la banda de color no guarda correlación con el título de antígeno NS1 en la muestra.
3. Un resultado negativo indica la ausencia de niveles detectables de anticuerpos o de antígeno NS1, pero no excluye la posible exposición a una infección con el virus del dengue.
4. Puede darse un resultado negativo si la concentración de antígeno NS1 presentes en la muestra son inferiores al su límite de detección, o si los anticuerpos o antígeno no están presentes en el estadio de la infección cuando se obtiene la muestra.
5. La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y la prueba es negativa, se recomienda repetir el ensayo con otro dispositivo o periódicamente.
6. Algunas muestras con títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados.
7. Los resultados obtenidos deben ser interpretados junto con otros métodos diagnósticos y la sintomatología del paciente.

PRECAUCIONES

1. Este folleto debe leerse completamente antes de realizar la prueba. Si no se siguen las instrucciones pueden obtenerse resultados inexactos.
2. No abrir el sobre hasta que no se vaya a realizar la prueba.
3. No usar los dispositivos si se encuentran caducados.
4. Atemperar los reactivos a 15- 30°C antes de su uso.
5. No utilizar componentes de otro ensayo como sustituto de los componentes de este kit.
6. No utilizar sangre hemolizada para la prueba.
7. Usar ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lavar las manos después de realizar la prueba.
8. Seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.
9. No fumar, beber ni comer en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
10. Desechar todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
11. Manipular los controles positivos y negativos de la misma forma que las muestras de los pacientes.
12. Los resultados de la prueba deben leerse a los 20-25 minutos tras la aplicación de la muestra al pocillo. Cualquier resultado interpretado fuera de los 20-25 minutos debe ser considerado inválido y debe repetirse.
13. No procesar la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

REFERENCIAS

1. Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue haemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. *Emerg Infect Dis* 1995;1(2):55-57.
2. Gubler DJ, Trent DW. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infect Agents Dis* 1994;2:383-393.
3. Monath TP. Dengue: The risk to developed and developing countries. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:2395-2400.
4. Alcon S, Talarmin A., Debruyne M., et al: 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. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 376-381

O4275240-4/1705
cas.

