

Una prueba rápida para una prueba cualitativa para la detección del antígeno NS1 del virus del dengue en sangre, suero o plasma humanos. Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

**【USO PREVISTO】**

El casete de prueba rápida de antígeno NS1 del dengue (sangre completa / suero / plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa del antígeno NS1 del virus del dengue en sangre completa, suero o plasma humanos como ayuda en el diagnóstico de infecciones por dengue.

**【RESUMEN】**

El dengue es un flavivirus, transmitido por los mosquitos Aedes aegypti y Aedes albopictus. El dengue es una enfermedad tropical transmitida por mosquitos que se caracteriza por dolor de cabeza, erupción cutánea y dolores musculares y articulares debilitantes. La enfermedad viral dolorosa y en ocasiones fatal puede provocar insuficiencia circulatoria, shock, coma y muerte. La fiebre del dengue se transmite a los seres humanos por el mosquito Aedes aegypti y es causada por uno de los cuatro serotipos del virus relacionados, pero distintos (DEN 1-4).<sup>1</sup> La infección por dengue clásica se caracteriza por un inicio repentino de fiebre, dolor de cabeza intenso, mialgia, artralgia y erupción. NS1 es una de las 7 proteínas no estructurales del virus del dengue que se cree que participan en la replicación viral. NS1 existe como monómero en su forma inmadura, pero se procesa rápidamente en el retículo endoplásmico para formar un dímero estable. Una pequeña cantidad de NS1 permanece asociada con orgánulos intracelulares donde se cree que participa en la replicación viral. El resto de NS1 se encuentra asociado con la membrana plasmática o secretado como un hexámero soluble. NS1 es esencial para la viabilidad viral pero se desconoce su función biológica precisa. Los anticuerpos producidos en respuesta a NS1 en la infección viral pueden reaccionar de forma cruzada con los antígenos de la superficie celular en las células epiteliales y las plaquetas y esto se ha implicado en el desarrollo de la fiebre hemorrágica del dengue.

El casete de prueba rápida del antígeno NS1 del dengue (sangre total / suero / plasma) es una prueba rápida que utiliza una combinación de partículas coloreadas recubiertas de anticuerpos del dengue para la detección del antígeno NS1 del dengue en sangre completa, suero o plasma humanos.

**【PRINCIPIO】**

El casete de prueba rápida del antígeno del dengue NS1 (sangre total / suero / plasma) es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección del antígeno del dengue NS1 en sangre total, suero o plasma. Durante la prueba, la muestra reacciona con el conjugado de anticuerpos contra el dengue en el casete de prueba. El conjugado de anticuerpos de oro se unirá al antígeno del dengue en la muestra de la muestra, que a su vez se unirá al antígeno NS1 recubierto en la membrana. A medida que el reactivo se mueve a través de la membrana, el anticuerpo Dengue NS1 en la membrana se unirá al complejo anticuerpo-antígeno provocando la formación de una línea rosa pálida u oscura en la región de la línea de prueba de la membrana de prueba. La intensidad de las líneas variará dependiendo de la cantidad de antígeno presente en la muestra. La aparición de una línea rosa en la región de la prueba debe considerarse un resultado positivo.

**【REACTIVOS】**

El casete de prueba contiene partículas de látex conjugadas con anticuerpos anti-Dengue NS1 y anticuerpos anti-Dengue NS1 recubiertos en la membrana.

**【PRECAUCIONES】**

- Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todo el procedimiento y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.

**【ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD】**

El kit puede almacenarse a temperatura ambiente o refrigerarse (2-30 °C). El casete de prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada. El casete de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No lo use después de la fecha de vencimiento.

**【RECOLECCIÓN DE MUESTRA Y PREPARACIÓN】**

- El casete de prueba rápida de antígeno NS1 del dengue (sangre completa / suero / plasma) se puede realizar utilizando sangre completa, suero o plasma.
- Para recolectar muestras de sangre entera por punción digital: Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón o límpiela con un hisopo con alcohol. Dejar secar
- Masajee la mano sin tocar el lugar de la punción frotando la mano hacia la punta del dedo medio o anular.
- Perfore la piel con una lanceta esterilizada. Limpia el primer signo de sangre.
- Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma y el dedo para formar una gota de sangre redondeada sobre el lugar de la punción.

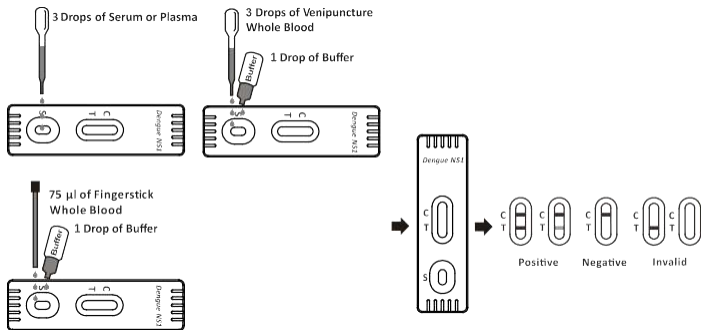
- Agregue la muestra de sangre total por punción digital al casete de prueba utilizando un gotero o una micropipeta de 10 ul. El gotero proporcionado con la prueba dispensa aproximadamente 10 ul en una gota incluso si se aspira más sangre en el gotero approximately 10ul in one drop even if more blood is aspirated in the dropper.
- Separe el suero o el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Utilice únicamente muestras transparentes no hemolizadas.
- La prueba debe realizarse inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8 °C hasta por 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 °C. La sangre entera recolectada por venopunción debe almacenarse a 2-8 °C si la prueba se va a realizar dentro de los 2 días posteriores a la recolección. No congele muestras de sangre entera. La sangre entera recolectada por punción digital debe analizarse inmediatamente.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones federales para el transporte de agentes etiológicos

**【MATERIALES】**

- Materiales suministrados**
- Cassetes de prueba
  - Búfer
  - Goteros
  - Ficha técnica
- Materiales requeridos pero no provistos**
- Recipientes de recogida de muestras
  - Micropipeta
  - Lancetas (solo para sangre total por punción digital)
  - Centrífuga (solamente para plasma)
  - Cronómetro

**【INSTRUCCIONES DE USO】**

- Deje que la prueba, la muestra, el tampón y / o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de la prueba.
1. Deje que la bolsa alcance la temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y utilícelo en el plazo de 1 hora.
  2. Coloque el casete sobre una superficie limpia y nivelada.
    - Para **muestras de suero o plasma**:
    - Sostenga el gotero en posición vertical y transfiera 3 gotas de suero o plasma (aproximadamente 75 µL) al área de la muestra, e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación.
    - Para muestras de **sangre total por punción venosa**:
    - Sostenga el gotero en posición vertical y transfiera 3 gotas de sangre total (aproximadamente 75 µL) al área de la muestra, luego agregue 1 gota de tampón (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación.
    - Para muestras de **sangre total por punción digital**:
    - Para usar un tubo capilar: Llene el tubo capilar y transfiera aproximadamente 75 µL de muestra de sangre completa por punción digital al área de la muestra del casete de prueba, luego agregue 1 gota de tampón (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación.
  3. Espere a que aparezcan las líneas de color. Lea los resultados a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



**【INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS】**

(Consulte la ilustración anterior)

**POSITIVO:** \* Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de prueba (T).  
**\*NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de antígeno NS1 del Dengue presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de rojo en la región de prueba debe considerarse positivo.

**NEGATIVO:** Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea roja o rosa aparente en la región de prueba (T).

**INVALIDO:** La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

**【CONTROL DE CALIDAD】**

Los controles de procedimiento internos están incluidos en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control de procedimiento positivo interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. Los estándares de control no se suministran con este kit; Sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el desempeño adecuado de la prueba.

**【LIMITACIONES】**

1. El procedimiento del ensayo y la interpretación del resultado del ensayo deben seguirse de cerca al analizar la presencia de Ag del dengue en suero o plasma de sujetos individuales. No seguir el procedimiento puede dar resultados inexactos.
2. La prueba rápida del antígeno NS1 del dengue se limita a la detección cualitativa de Ag del dengue en sangre completa, suero o plasma humanos. La intensidad de la banda de prueba no se correlaciona linealmente con el título de Ag Dengue de la muestra.
3. Un resultado negativo de la prueba no excluye la posibilidad de exposición o infección por el virus del dengue.
4. Puede ocurrir un resultado negativo si la cantidad de dengue Ag presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si el dengue Ag que se detecta no está presente durante la etapa de la enfermedad en la que se recolecta la muestra.
5. Algunas muestras que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
6. Si el síntoma persiste, mientras que el resultado de la prueba rápida Dengue NS1 es negativo o no reactivo, se recomienda volver a tomar la muestra del paciente unos días después o realizar la prueba con un dispositivo de prueba alternativo como PCR, ELISA.
7. Los resultados obtenidos con esta prueba solo deben interpretarse junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

**【VALORES ESPERADOS】**

El casete de prueba rápida de antígeno NS1 del dengue (sangre total / suero / plasma) se ha comparado con una prueba comercial líder de Dengue Ag EIA. La correlación entre estos dos sistemas es del 96.1%.

**【CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO】**

**Sensibilidad y Especificidad**

El casete de prueba rápida de antígeno NS1 del dengue (sangre total / suero / plasma) ha pasado un panel de seroconversión y se ha comparado con una prueba comercial líder de Dengue Ag EIA utilizando muestras clínicas.

Los resultados muestran que la sensibilidad relativa del casete de prueba rápida de antígeno NS1 del dengue (sangre total / suero / plasma) es del 95.8% y la especificidad relativa es del 96.2%.

Método	Dengue Ag EIA Test		Resultados totales
	Positivo	Negativo	
Casete de prueba rápida de antígeno NS1 del dengue (sangre entera / suero / plasma)	Positivo	69	73
	Negativo	3	105
Resultados totales	72	106	178

Sensibilidad relativa: 69/72\*100%=95.8% (95%CI\*: 88.3%-99.1%);  
 Especificidad relativa: 102/106\*100%=96.2% (95%CI\*: 90.6%-99.0%);  
 Exactitud: (69+102)/(69+3+4+102)\*100%=96.1%(95%CI\*:92.1%-98.4%)  
 \*Intervalo de confianza

**Precisión**

**Intra-Ensayo**

La precisión intra-análisis se ha determinado mediante el uso de 15 réplicas de dos muestras: una negativa y una NS1 positiva. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

**Inter-Ensayo**

La precisión entre análisis se ha determinado mediante 15 ensayos independientes en las mismas dos muestras: una negativa y una NS1 positiva. Se han analizado tres lotes diferentes del casete de prueba rápida Dengue NS1 (sangre total / suero / plasma) con estas muestras. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

**Reactividad Cruzada**

El casete de prueba rápida del antígeno NS1 del dengue (sangre total / suero / plasma) ha sido probado por HAMA, RF, HBSAg, HBSAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, sífilis, VIH, VHC, H. Pylori, MONO, CMV, rubéola y TOXO muestras positivas. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

**Sustancias Interferentes**

Se agregaron las siguientes sustancias potencialmente interferentes a las muestras negativas y positivas para Dengue NS1.

Acetaminofen: 20 mg/dL	Cafeína: 20 mg/dL
Ácido Acetilsalicílico: 20 mg/dL	Ácido genticónico: 20 mg/dL
Ácido Ascórbico: 2g/dL	Albumina: 2g/dL
Creatina: 200 mg/dL	Hemoglobina 1000mg/dL
Bilirrubina: 1g/dL	Ácido oxálico: 600mg/dL

Ninguna de las sustancias a la concentración probada interfirió en el ensayo.

**【BIBLIOGRAFIA】**

1. Americas Health Foundation, Break Dengue. AHF, 2015; 1-5;