



Detect-AR

Dengue

TEST de ELISA NS1

Enzimoimmunoensayo (ELISA) para la detección del Antígeno NS1 de virus Dengue en muestras de suero o plasma humano.

Sólo para diagnóstico de uso “in vitro”

PRESENTACIÓN: 96 determinaciones (Cod. DNS96)

ASPECTO CLÍNICO

Detect-AR Dengue TEST de ELISA NS1 puede ser usado para la detección “in vitro” del Antígeno NS1 de Virus Dengue (DENV) en muestras de suero o plasma humano, constituyendo una herramienta complementaria en el diagnóstico de la infección aguda por dengue y la Fiebre hemorrágica por dengue antes de la aparición de los anticuerpos específicos. DENV pertenece a la familia de virus Flaviviridae y se transmite a las personas por la picadura de los mosquitos del Género *Aedes* (*Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*).

Las infecciones por dengue son causadas por cuatro virus estrechamente relacionados. Estos cuatro virus se clasifican en serotipos DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4, y, a pesar de estar emparentados evolutivamente, cada uno genera una respuesta inmune diferente frente a antígenos particulares. Los cuatro serotipos de DENV difieren entre sí entre un 25% y un 40% a nivel de aminoácidos. Además, dentro de cada serotipo pueden existir subtipos que varían en el genotipo hasta en un 3%.

Las infecciones por dengue ocurren en general en áreas tropicales y subtropicales, las cuales son propicias para la propagación del mosquito transmisor del virus. En seres humanos produce un espectro de enfermedad clínica que va desde el síndrome viral

inespecífico hasta la enfermedad hemorrágica severa y muerte. El tiempo transcurrido desde la infección hasta la aparición de síntomas es de aproximadamente 2-4 días.

El genoma de DENV es de ARN monocatenario, tiene un tamaño aproximado de 11 kb, y codifica para tres proteínas estructurales (la proteína de membrana, la proteína de envoltura y la proteína de la cápside) y cinco proteínas no estructurales (NS): NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5. NS1 es una glicoproteína de 46 kDa que se sintetiza inicialmente como un monómero soluble y participa en las primeras etapas de la replicación del ARN viral. Además, durante la infección, NS1 se secreta en forma de hexámero y se une a lípidos, pudiéndose detectar en la sangre de pacientes infectados con DENV desde el primer día de síntomas, ya que circula en niveles de ng/ml a µg/ml en la fase aguda de infección. En general, los niveles de NS1 en sangre correlacionan con la viremia, por lo que constituye un excelente biomarcador de infección por DENV. NS1 es detectable en infecciones primarias como secundarias.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Ensayo inmunoenzimático, basado en el método Sandwich de doble Anticuerpo para la detección del Antígeno NS1 del virus del Dengue en muestras de suero o plasma humano.

Una dilución apropiada de las muestras se incuba en pocillos de poliestireno, recubiertos con un Anticuerpo Anti-NS1 que reconoce a la proteína NS1 de los cuatro serotipos de DENV. El Antígeno NS1 producido por el virus dengue es específicamente capturado por esos Anticuerpos, quedando unido a la fase sólida. Luego de varios lavados, a fin de eliminar lo no capturado, el sistema se incuba con un anticuerpo anti-NS1 que reconoce a NS1 de los cuatro serotipos de DENV, conjugado a peroxidasa. Este conjugado reacciona específicamente con el Antígeno NS1 de DENV inmunocapturados. El conjugado no unido se desecha por lavado y se revela la presencia de peroxidasa mediante el agregado de peróxido de hidrógeno/tetrametilbencidina como sustrato cromogénico. Esta incubación da como resultado la aparición de un color azul cuya intensidad depende de la concentración de

NS1 de DENV de la muestra. La reacción enzimática es detenida mediante el agregado de ácido sulfúrico, lo que produce un viraje de color hacia el amarillo espectrofotométricamente cuantificable.

CONTENIDO

Microplaca con tiras de pocillos: Microplaca(s) de 12x8 tiras con pocillos rompibles sensibilizados con Anticuerpos Anti-NS1 de DENV representativo de los cuatro serotipos. La microplaca está envasada en una bolsa tipo aluminio sellada con silicagel como desecante en su interior. Llevar a temperatura ambiente antes de abrir para prevenir la formación de humedad.

Nº de microplacas 1

Control Positivo: Dilución de suero humano reactivo para el Antígeno NS1 de DENV, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Volumen 0.8 ml

Control Negativo: Dilución de suero humano no reactivo para el Antígeno NS1 de DENV, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Volumen 0.8 ml

Diluyente de Muestras: Suspensión proteica para la dilución de las muestras, estabilizada buffereada con P.B.S., con inhibidores de inespecificidad, con conservadores. Listo para usar.

Volumen 7 ml

Solución para Lavado 25X: Solución para lavado de los pocillos concentrada 25X para ser diluida con Agua Destilada o Desionizada antes de usar. Contiene un buffer fosfato concentrado y un agente surfactante.

Volumen 50 ml

Conjugado 10X: Solución proteica buffereada que contiene un anticuerpo anti-NS1 de DENV representativo de los cuatro serotipos conjugado con peroxidasa (HRP), concentrado 10X. Contiene estabilizadores de proteínas y conservadores. Diluir 1:10 antes de usar con el Diluyente de Conjugado provisto.

Volumen 1,5 ml

Diluyente de Conjugado: Suspensión proteica para la dilución del conjugado concentrado 10X, estabilizada buffereada con P.B.S., con conservadores. Agitar antes de usar.

Volumen 15 ml

Sustrato/Cromógeno: Solución que contiene peróxido de hidrógeno tamponado y 3,3',5,5', Tetrametilbenzidina (TMB) con estabilizadores. Listo para usar. *Advertencia: Almacenar y manipular protegida de la luz.*

Volumen 15 ml

Solución Stop: Solución de Ácido Sulfúrico 1M. Reactivo corrosivo. Listo para usar.

Volumen 15 ml

2 selladores autoadhesivos para tapar los pocillos en las incubaciones a 37°C durante 60 minutos.

Manual de Instrucciones: El presente documento.

Nota: *Control Positivo y Negativo* se preparan a partir de suero humano no reactivo para HBsAg y para anticuerpos contra HCV y HIV, adecuadamente inactivado. Sin embargo, por ser derivados de la sangre humana deben manejarse con precaución.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

1. Micropipetas de 50, 100, 200 y 1000 µl con puntas descartables.
2. Material volumétrico de vidrio.
3. Cronómetro y papeles absorbentes.
4. Agua Destilada o Desionizada.
5. Incubador de microplacas de ELISA termostatzado a 37±1 °C.
6. Sistema lavador microplacas automático o manual capaz aspirar y dispensar volúmenes de 300-400 µl con recipiente colector de desechos potencialmente infectivos.
7. Lector fotométrico de ELISA lineal con filtro de 450nm o bicromático provisto con filtros de 450nm y 620-630 nm. (de uso alternativo).
8. Materiales de bioseguridad.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. El kit tiene que ser conservado entre 2 y 8°C siempre en posición vertical. No congelar.
2. La humedad puede afectar la estabilidad de los pocillos de la microplaca. Para prevenir esto, la microplaca debe ser llevada a temperatura ambiente antes de abrir su envase. Saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde los restantes en su propio envase en presencia del desecante. Cierre herméticamente y colóquelas nuevamente entre 2 y 8 °C.
3. La Solución de Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.
4. Todos los otros reactivos son estables entre 2 y 8°C siempre que se hayan manipulado cuidadosamente para evitar la contaminación.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

1. Los procedimientos deben realizarse cuidadosamente para obtener resultados e interpretaciones clínicas fiables.
2. Evite cualquier contaminación de los reactivos al sacarlos de sus recipientes. Se recomienda utilizar pipetas automáticas con puntas descartables. Cuando dispense los reactivos no toque las paredes y el fondo de los pocillos.
3. No mezcle reactivos de lotes diferentes. No intercambie la tapa entre los diferentes reactivos componentes del equipo.
4. Asegúrese que el Sustrato/Cromógeno no entre en contacto con agentes oxidantes o con superficies metálicas; evite su exposición a la luz durante la etapa de incubación o en su manipulación. Cuando utilice el reactivo hágalo sólo en recipientes y materiales plásticos descartables, perfectamente limpios o estériles.
5. Muestras y materiales potencialmente infecciosos tienen que ser manejados con cuidado siguiendo las normas de bioseguridad vigentes.

6. Todos los objetos en contacto directo con las muestras y los residuos del ensayo deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los procedimientos más efectivos para la inactivación son el tratamiento con autoclave a 121°C durante 30 minutos o con Hipoclorito de Sodio a una concentración final de 2.5% durante 24 horas.
7. Evite cualquier contacto de líquidos con la piel, ojos y mucosas. En caso de contacto, lave con abundante agua. Siempre use para su protección guantes, lentes, etc., según las normas de bioseguridad acordes con esta patología.
8. La Solución Stop es corrosiva por lo tanto manipúlela con cuidado.

PRECAUCIONES TÉCNICAS

- ✓ Coloque todos los reactivos a temperatura ambiente al menos 1 hora antes de comenzar con la prueba.
- ✓ Para prevenir la incidencia de la humedad en la microplaca, atempérela, saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde inmediatamente los restantes en su propio envase que contiene el desecante. Obture firmemente el envase con cinta (cierre hermético) antes de guardar la microplaca entre 2 y 8°C.
- ✓ Al depositar los reactivos en los Pocillos de Reacción No toque internamente sus paredes y su fondo, durante todo el procedimiento de ensayo. Hacerlo podría generar falsos resultados o resultados no reproducibles.
- ✓ **Para evitar la evaporación, tapar perfectamente los Pocillos con los selladores autoadhesivos provistos en las incubaciones a 37 °C durante 60 minutos.**
- ✓ Los tiempos de distribución e incubación deben ser los mismos para todos los pocillos; evite interrupciones entre los pasos del ensayo.
- ✓ En el procedimiento de lavado, use sólo la Solución para Lavado proporcionada con el equipo y siga cuidadosamente las indicaciones expresadas en la sección “Instrucciones de Lavado”.

- ✓ Elimine el exceso de Solución de lavado de los pocillos golpeándolos en forma invertida sobre papel absorbente.
- ✓ El color desarrollado en la última incubación es estable como máximo 30 minutos en la oscuridad.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Utilizar suero o plasma (EDTA, Heparina, Citrato). La sangre se extraerá de un paciente preferentemente en ayunas siguiendo las normas generales.

Las muestras de suero ó plasma deben ser límpidas. Ante la presencia de turbiedad, precipitados o coágulos recomendamos centrifugar a 2000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente o filtrar con membranas de 0.22 μ . No utilizar muestras con contaminación bacteriana dado que pueden producir falsos resultados.

Muestras de suero o plasma altamente lipémicas, ictericas o hemolizadas no deberían ser usadas ya que pueden dar falsos resultados en el ensayo. Si las muestras no son usadas inmediatamente pueden guardarse entre 2 y 8°C durante 1 semana y atemperarse antes de usar. Evitar utilizar muestras congeladas.

Las muestras deben ser manipuladas con cuidado siguiendo las normas de bioseguridad vigentes.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Diluyente de Conjugado: Agitar antes de usar.

Solución para Lavado: La Solución para Lavado concentrada 25X puede precipitar con el frío. Cuando esto ocurre, coloque la solución a 37°C hasta su completa disolución. Antes de usar, tiene que ser diluida 1:25 con Agua Destilada o Desionizada. Homogeneizar bien. La Solución para Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.

Conjugado 10X: Minutos antes de usar diluya el Conjugado concentrado 1:10 con el Diluyente de Conjugado provisto. Homogeneizar la solución suavemente. Preparar sólo la cantidad necesaria para las pruebas en curso.

INSTRUCCIONES DE LAVADO

Un buen procedimiento de lavado es esencial para obtener datos analíticos correctos y precisos.

Recomendamos que utilice un equipo lavador automático de microplacas de ELISA, calibrado y en buen funcionamiento. Normalmente 6 ciclos de lavado automático de aproximadamente 400 μ l/pocillo cada uno, (preferentemente hasta el límite superior de los pocillos) con un reposo de 30 segundos entre cada ciclo, son suficientes para remover falsos positivos y ruido de fondo. Recomendamos calibrar el sistema de lavado sobre el propio equipo para tener reproducibilidad en el desarrollo analítico.

En caso de lavado manual, se sugiere realizar 6 ciclos, distribuyendo y aspirando aproximadamente 400 μ l/pocillo por ciclo.

En todos los casos, los desechos potencialmente infectivos del lavado de las microplacas tienen que ser inactivados con Hipoclorito de Sodio al 2.5% en concentración final durante 24 horas y desechados según la legislación vigente como residuos patogénicos.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Por lo menos 1 hora antes de usar coloque todos los reactivos necesarios para la prueba a temperatura ambiente. Además, atemperar las muestras a usar antes de agregarlas a los Pocillos. Agite antes de usar el Diluyente de Conjugado.

1. Extraer del envase la cantidad de Pocillos de Reacción necesarios para el ensayo considerando las Muestras y los Controles. *Se recomienda ensayar los Controles por duplicado.*
2. Depositar en cada pocillo 50 μ l de Diluyente de Muestras sin tocar las paredes y el fondo interno de los pocillos.
3. Seguidamente depositar 50 μ l de cada muestra y los respectivos Controles sin tocar las paredes y el fondo interno de los pocillos.
4. Aplicar sobre todos los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos.
5. Tapar los pocillos con el sellador autoadhesivo provisto para evitar la evaporación.

6. Incubar a 37 °C durante 60 minutos.
7. Retirar el sellador autoadhesivo. Descartar el contenido total de los pocillos por aspiración y lavarlos 6 veces con la Solución para Lavado diluida (ver Preparación de los Reactivos) según las instrucciones indicadas en *Instrucciones de lavado*. Por último, invertir los pocillos y golpearlos sobre papel absorbente para eliminar el líquido residual.
8. Durante la incubación y minutos antes de usar preparar la solución de Conjugado diluido (ver Preparación de los Reactivos).
9. Depositar en cada pocillo 100µl de la solución de Conjugado diluido sin tocar las paredes y el fondo interno de los pocillos.
10. Aplicar sobre todos los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos.
11. Tapar los pocillos con el sellador autoadhesivo provisto para evitar la evaporación.
12. Incubar a 37 °C durante 60 minutos.
13. Retirar el sellador autoadhesivo. Descartar la solución de conjugado y lavar 6 veces como se indicó en el punto 7.
14. Depositar 100 µl de Substrato /Cromógeno a todos los pocillos. Homogeneizar bien durante 10 segundos aplicando sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales
15. Incubar a 37 °C y oscuridad durante 30 minutos.
16. Retirar del incubador frenar la reacción enzimática con el agregado de 100 µl de Solución Stop, homogeneizar bien durante 10 segundos y medir la Densidad Óptica a 450/630 nm con un lector de ELISA empleando blanco de aire, dentro de los 30 minutos de agregada la solución.

Esquema del procedimiento de ensayo:

<i>Posición</i>	<i>Controles/Muestras</i>
A1+B1	Control Negativo
C1+D1	Control Positivo
E1..... H12	Muestras

<i>Atemperar 1 hora antes de usar todos los reactivos y las muestras</i>		
<i>Reactivos</i>	<i>Controles</i>	<i>Muestras</i>
Diluyente de Muestras	50µl	50µl
Muestras y Controles	50µl	50µl
<i>Homogeneizar 10 segundos, tapar e incubar durante 60 minutos a 37 °C.</i>		
Lavar 6 veces con Solución para Lavado diluida (Ver Preparación de los Reactivos)		
Diluir cantidad necesaria de Conjugado 10X		
Conjugado diluido (Ver Preparación de los Reactivos)	100µl	100µl
<i>Homogeneizar 10 segundos, tapar e incubar durante 60 minutos a 37 °C.</i>		
Lavar 6 veces con Solución para Lavado diluida (Ver Preparación de los Reactivos)		
Sustrato/Cromógeno	100µl	100µl
<i>Homogeneizar 10 segundos e incubar durante 30 minutos a 37 °C y oscuridad.</i>		
Leer inmediatamente los resultados en forma visual o frenar la reacción.		
Solución Stop	100µl	100µl
Homogeneizar 10 segundos y leer espectrofotométricamente a 450/630 nm contra blanco de aire dentro de los 10 minutos de agregada la Solución.		

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS EN FORMA VISUAL

El Control Negativo debe ser incoloro o puede presentar una coloración celeste tenue. El Control Positivo, debe ser de color celeste o azul diferenciable del Control Negativo.

Las muestras incoloras o con coloración celeste tenue similar a la del Control Negativo, se considerarían presumiblemente **no reactivas** para el Antígeno NS1 de DENV. Las muestras que evidencien una coloración azul o celeste claramente distinguible del Control Negativo se considerarían presumiblemente **reactivas** para el Antígeno NS1 de DENV.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS CON UN LECTOR DE ELISA

Luego del agregado de la Solución Stop, homogeneizar durante 10 segundos y medir la densidad óptica (D.O.) de cada pocillo con un lector fotométrico de ELISA lineal con filtro de 450nm o alternativamente bicromático provisto con filtros de 450nm y 620-630 nm, empleando blanco de aire, dentro de los 10 minutos de agregada la solución.

Los valores obtenidos pueden variar de acuerdo al lector fotométrico de ELISA empleado y no pueden ser intercambiados con otros productos.

VALIDEZ DEL ENSAYO

El ensayo es considerado válido si:

1. El valor de DO 450/630nm promedio del Control Negativo (CN) es < 0.150 . Valores anormales se observan si el sistema de lavado es defectuoso o no se observaron las “Instrucciones de Lavado” descritas en la sección correspondiente.
2. El valor de DO 450/630nm del Control Positivo (CP) es ≥ 0.500 . Valores diferentes se observan en caso de mantenimiento incorrecto del kit.

En caso de que no se cumpla alguna de las especificaciones mencionadas anteriormente, antes de repetir el test verifique el correcto funcionamiento de los instrumentos usados en el ensayo, el procedimiento de distribución de Controles y Muestras o cualquier falla operativa.

CÁLCULO DE RESULTADOS

La presencia o ausencia del Antígeno NS1 del virus del Dengue, debe ser analizada teniendo en cuenta el Límite de Decisión (**Cut-off value**).

Calcule el valor promedio de densidad óptica (DO) del Control Negativo, verifique la validez del ensayo como se describió y aplique la fórmula siguiente:

Límite de Decisión o Cut-off value = DO promedio del Control Negativo + 0.150

Muestras con un valor de DO 450/630nm dentro del valor del Cut-off $\pm 10\%$ se considerarían en zona gris.

Las muestras con un valor de DO 450/630nm por debajo del límite inferior de la zona gris se considerarían no reactivas para el Antígeno NS1 del virus del Dengue.

Muestras con un valor de DO 450/630nm más alto que el límite superior de la zona gris se considerarían reactivas para el Antígeno NS1 del virus del Dengue.

Ejemplo de cálculo:

Control Negativo promedio DO 450/630nm = 0.031

Control Positivo DO 450/630nm = 1.200

Cut-off = CN + 0.150 = 0.181

Zona gris: Entre 0.163 y 0.199

Muestra #1 DO 450/630nm = 0.055 No reactiva

Muestra #2 DO 450/630nm = 0.580 Reactiva

Muestra #3 DO 450/630nm = 0.177 Zona gris

Expresión de los resultados utilizando IP o RP

Luego de obtenido los valores de DO óptica es posible expresar los resultados del análisis utilizando el Índice de Positividad (IP) o Relación de Positividad (RP). Se obtiene por cálculo mediante el cociente entre la DO de la muestra y el Cut-off.

Este es un valor orientativo dependiente de la concentración de anticuerpos específicos y su afinidad, del tipo de lector fotométrico de ELISA y su rango de lectura y de condiciones operativas.

Muestras con un valor de IP o RP entre 0.9-1.1 se considerarían en zona gris.

Las muestras con un valor de IP o RP menor que 0.9 se considerarían no reactivas para NS1 de DENV.

Muestras con un valor de IP o RP mayor que 1.1 se considerarían reactivas para NS1 de DENV.

Ejemplo de cálculo utilizando IP o RP:

Control Negativo promedio DO 450/630nm = 0.031

Control Positivo DO 450/630nm = 1.200

Cut-off = CN + 0.150 = 0.181

Zona gris: Entre 0.163 y 0.199

Muestra #1 DO 450nm = 0.055 / Cut-off = 0.181 No reactiva, IP o RP = 0.3

Muestra #2 DO 450nm = 0.580 / Cut-off = 0.181 Reactiva, IP o RP = 3.2

Muestra #3 DO 450nm = 0.177 / Cut-off = 0.181 Zona gris, IP o RP = 1.0

Los valores máximos de IP o RP dependen del lector fotométrico de ELISA ya que pueden tener máximos de medición (saturación) diferentes.

CONCLUSIONES

El Antígeno NS1 del Virus del Dengue es detectable en el mismo período que el ARN viral, desde el inicio de los síntomas y hasta 9 días posteriores o más lo que hace que sea útil durante la etapa aguda. Es detectable en infecciones primarias como secundarias. Resultados positivos y dudosos para el Antígeno NS1 de DENV pueden ser indicativos de una infección o reinfección reciente o aguda.

Un resultado negativo en las etapas tempranas de la enfermedad no excluye la posibilidad de una infección por DENV.

Resultados no reproducibles en la reactividad de las muestras o de los controles podrían deberse a algunas de las siguientes causas:

- Lavado incorrecto de los pocillos de reacción.
- Contaminación cruzada de una muestra no reactiva con una muestra reactiva adyacente.
- Contaminación del Sustrato y Cromógeno con agentes oxidantes (como por ejemplo cloro).
- Contaminación de la Solución Stop.
- Contaminación de la Solución para Lavado diluida.
- Conservación inadecuada de los pocillos de reacción no utilizados.
- Mal dispensado de las muestras y reactivos.
- Tocar internamente las paredes y el fondo de los Pocillos de Reacción durante el procedimiento de ensayo.
- No tapar perfectamente los Pocillos con el sellador autoadhesivo provisto durante las incubaciones a 37 °C durante 60 minutos.
- Incorrecto funcionamiento de los equipos y materiales utilizados para el desarrollo de la reacción.
- Usar materiales no provistos potencialmente contaminados o mal lavados.
- Usar recipientes para la preparación de los reactivos potencialmente contaminados o mal lavados.

- Insuficiente atemperado del Kit al retirarlo de su temperatura de conservación antes de realizar la prueba.
- Inobservancia del procedimiento especialmente en la temperatura y tiempo de incubación.
- Otras.

DESEMPEÑO

Sensibilidad diagnóstica

Se analizó con *Detect-AR Dengue TEST de ELISA NS1* 119 muestras de pacientes que han sido reactivas para el Antígeno NS1 de DENV proveniente de infecciones con los 4 (cuatro) serotipos de dengue empleando otros ELISA comerciales aprobados por las Autoridades Sanitarias tomados como referencia y otras reacciones como PCR y Test Rápido. En estas condiciones se observó una concordancia 98.3%.

Sensibilidad Analítica (LOD)

Se determinó el LOD con *Detect-AR Dengue TEST de ELISA NS1* en 0.04 ng/ml para NS1 DENV2, usando NS1 recombinante cuantificado.

Especificidad

Se analizó con *Detect-AR Dengue TEST de ELISA NS1* 236 muestras pertenecientes a hemodonantes de Argentina y 95 muestras de otras fuentes que han sido caracterizadas como No reactivas para el Antígeno NS1 de DENV empleando otros ELISA comerciales aprobados por las Autoridades Sanitarias tomados como referencia y otras reacciones como PCR. El 99.4% de las muestras arrojaron resultados No reactivos.

No presentó reactividad cruzada frente a una (1) muestra reactiva para Zika y diez (10) muestras reactivas para Chikungunya.

No presentó reactividad cruzada frente a HIV, HCV, HBsAg, GCH y Factor Reumatoideo.

Reproducibilidad

Se utilizó 3 muestras reactivas con reactividades diferentes y una muestra no reactiva, cada una haciendo 8 replicados.

Adicionalmente, se utilizó 3 muestras reactivas con reactividades diferentes y una muestra no reactiva, cada una haciendo 4 replicados en 5 días diferentes. En todos los casos se obtuvieron coeficientes de variación menores al 20%.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. La técnica de ELISA, como cualquier otra técnica serológica, debe ser utilizada e interpretada en correlación con datos epidemiológicos, manifestaciones clínicas y programas de vacunación cuando es aplicable.

Debido a la alta homología genética con otros Flavivirus (Zika, Chikungunya, etc.) presentes en Sudamérica, podrían aparecer reacciones cruzadas en estas poblaciones, por eso la valoración clínica y epidemiológica es importante para un diagnóstico más certero.

REFERENCIAS

- 1) Shu, P.Y.; Huang, J.H.: Current advances in dengue diagnosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2004 Jul; 11(4): 642-650.
- 2) Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever. Infectious Disease. Information by the National Center for Infectious Diseases, CDC. (<http://www.cdc.gov/ncidod/>)
- 3) Young, P. R., Hilditch, P. A., Bletchly, C. & Halloran, W. An Antigen Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Reveals High Levels of the Dengue Virus Protein NS1 in the Sera of Infected Patients. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 38 (2000).
- 4) Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, Vaughn DW, Nisalak A, Ennis FA, Rothman AL. (2002). High circulating levels of the Dengue virus nonstructural protein NS1 early in Dengue illness correlate with the development of Dengue hemorrhagic fever. J Infect Dis., 186(8), 1165-8.

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Director Técnico: Jorge O. Carradori. Bioquím. y Farm.

Santiago del Estero 1162.

C1075AAX. C.A.B.A. Argentina

Telefax: (5411) 4304-2204/2374

E-mail: info@lab-lemos.com

www.lab-lemos.com

Autorizado por A.N.M.A.T. PM-1545-14

USO PROFESIONAL-VENTA EXCLUSIVA

A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS.

Industria Argentina