

DENGUE NET

(sangre total/capilar, suero o plasma)
DNC 0326/01 Registro Sanitario: 1003R2024 SSA
REF DMDEN01

Uso deseado

La prueba rápida DENGUE NET (sangre total/capilar, suero o plasma) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa del antígeno NS1 y anticuerpos IgG e IgM del virus del dengue en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma.

Resumen

Transmitido principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*, el dengue es una enfermedad causada por un flavivirus, abreviado como DENV, que se adquiere a través de la picadura de un mosquito infectado. Una vez que el virus ingresa al organismo, inicia su replicación y, dependiendo del serotipo involucrado (ya que existen cuatro), el espectro clínico puede variar desde síntomas leves hasta cuadros potencialmente mortales. Actualmente, la enfermedad se clasifica en dengue y dengue grave. El primero se presenta generalmente en individuos que viven o han viajado a zonas endémicas y se caracteriza por síntomas como náuseas, cefalea, dolor retro-ocular, entre otros. En cambio, el segundo se distingue principalmente por tres manifestaciones: extravasación de plasma, especialmente hacia las cavidades pleural y abdominal, hemorragias graves y daño que compromete otros órganos, como el hígado [1].

El diagnóstico del dengue se realiza mediante pruebas sanguíneas; sin embargo, la técnica empleada depende de la etapa de evolución de la enfermedad. En la fase aguda (del día 1 a 5 desde el inicio de los síntomas) se recomienda la detección mediante RT-PCR en tiempo real o pruebas de antígeno NS1. En contraste, durante la fase de recuperación o convalecencia (a partir del día 6 del inicio de los síntomas), el diagnóstico debe enfocarse en la detección de anticuerpos IgM o IgG. Existen además otras pruebas diagnósticas que pueden emplear diferentes tipos de muestras, como suero, líquido cefalorraquídeo o biopsia hepática. Hasta el momento no existe una cura específica para el dengue, por lo que el tratamiento se centra principalmente en el alivio de los síntomas [2]. Las pruebas rápidas permiten un diagnóstico oportuno, lo que contribuye a reducir la transmisión y las complicaciones asociadas a la enfermedad [3].

Principio

La prueba rápida DENGUE NET (sangre total/capilar, suero o plasma) para la detección cualitativa del antígeno NS1 y anticuerpos IgG e IgM del virus del dengue en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba contiene dos membranas independientes, cada una correspondiente a una sección del cartucho, siendo antígeno (NS1 Ag) y anticuerpos (IgG e IgM):

- **Sección NS1 Ag:** membrana dividida en dos regiones: una región de prueba 'T' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-NS1 del virus del dengue y una región control 'C' con anticuerpos anti-ratón impresos.
- **Sección IgG/IgM:** membrana dividida en tres regiones: la primera región de prueba 'G' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-IgG humano, una segunda región de prueba 'M' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-IgM humano y una tercera región control 'C' con anticuerpos anti-ratón impresos.

La prueba posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con antígenos recombinantes del virus del dengue o anticuerpos anti-NS1 dependiendo de la membrana. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' de cada sección del cartucho junto con la solución de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar. Si la muestra no contiene o presenta concentraciones de antígeno NS1 o anticuerpos IgG/IgM anti-dengue por debajo del límite de detección, no se formará el complejo antígeno-anticuerpo, evitando la aparición de una línea de color en la región de prueba correspondiente ('T', 'G' o 'M'), lo que indica un resultado negativo para ese análisis. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones del antígeno NS1 o anticuerpos IgG/IgM anti-dengue por encima del límite de detección, se formará el complejo antígeno-anticuerpo, dando lugar a la aparición de una línea de color en la región de prueba ('T', 'G' o 'M') según la sección (NS1 Ag o IgG/IgM), lo que indica un resultado positivo para ese análisis. La validez de la prueba se confirma por la aparición de una línea de color en la región control 'C' en cada sección. Esta línea corresponde al control interno del procedimiento e indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y que la prueba se ejecutó correctamente.

Reactivos

La prueba de NS1 contiene un conjugado de nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos de detección anti-NS1 del virus del dengue, anticuerpos de captura anti-NS1 y anticuerpos anti-ratón.

La prueba de IgG e IgM contiene un conjugado de nanopartículas de oro coloidal recubiertas con antígenos recombinantes del virus del dengue, anticuerpos de captura anti-IgG/anti-IgM humano y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de utilizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si su empaque está dañado.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su empaque sellado a temperatura ambiente (15-30 °C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en su empaque.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Gotero
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Instructivo de uso

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Opcionales:
 - Lanceta (Punción capilar)
 - Almohadilla con alcohol
 - Centrifuga
 - Sistema de toma de muestra por venopunción

Recolección de muestra

Sangre

Por punción capilar:

- I. Lave la mano del paciente con agua fibia y jabón, después seque el área.
- II. Masaje la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia la yema del dedo anular o medio.
- III. Perfere la piel con una lanceta y limpie la primera señal de sangre.
- IV. Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
- V. A continuación, presione el bulbo del gotero, coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra y libere el bulbo para recolectar la sangre. Nota: Evite generar burbujas de aire.

Por venopunción:

- a) Tome la muestra según los criterios estándar. Para ello puede emplear un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina, citrato o oxalato) y utilizar la muestra directamente en la prueba.
- **Suero o Plasma**
 - a) Separe el suero o el plasma de la sangre tan pronto sea posible, esto con la finalidad de evitar la hemólisis de la muestra.

Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras hayan sido recolectadas.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Las muestras de sangre, suero o plasma pueden almacenarse máximo por 2 días a una temperatura de 2-8 °C.
- No congelar muestras de sangre.
- Las muestras de suero o plasma deben almacenarse por debajo de -20 °C para su conservación a largo plazo.
- Recuerde evitar ciclos de congelación/descongelación repentinos o continuos.
- Las muestras obtenidas por punción capilar deben procesarse inmediatamente.
- Utilizar muestras claras no hemolizadas, si existen partículas centrifugue, filtre y obtenga la muestra.
- Si las muestras deben enviarse, se recomienda empaquetarlas de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y buffer alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Retire el cartucho de su empaque y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Obtenga la muestra como se indicó en la sección 'Recolección de muestra'
2. Coloque la muestra y buffer en cada pozo 'S' del cartucho como se indica:

Sección IgG/IgM

Para muestras de suero o plasma

- Coloque 2 gotas de muestra (aproximadamente 30 µL).
- Agregue 3 gotas de buffer (aproximadamente 120 µL).

Para muestras de sangre total/capilar

- Coloque 2 gotas de muestra (aproximadamente 30 µL).
- Agregue 2 gotas de buffer (aproximadamente 80 µL).

Sección NS1

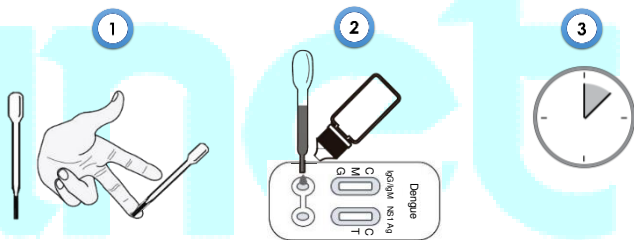
Para muestras de suero o plasma

- Coloque 1 gota de muestra (aproximadamente 15 µL).
- Agregue 2 gotas de buffer (aproximadamente 80 µL).

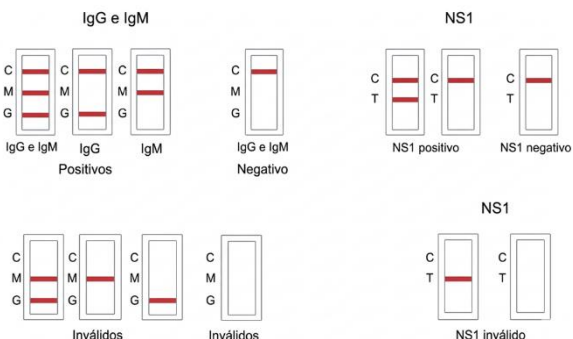
Para muestras de sangre total/capilar

- Coloque 2 gotas de sangre (aproximadamente 30 µL).
- Agregue 1 gota de buffer (aproximadamente 40 µL).

3. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 15 minutos. No interprete el resultado después de los 20 minutos.
- Nota: Debido a la susceptibilidad del buffer a ser contaminado por condiciones ambientales se recomienda no usarlo 3 meses después de haber sido abierto.



Interpretación de resultados



[Consulte la ilustración anterior]

IgG e IgM POSITIVO: Aparece una línea de color en la región 'C' y dos líneas de color en la región 'G y M'.

POSITIVO (IgG): Aparece una línea de color en la región 'C' y otra línea de color en la región 'G'.

POSITIVO (IgM): Aparece una línea de color en la región 'C' y otra línea de color en la región 'M'.

POSITIVO NS1: Aparece una línea de color en la región 'C' y otra línea de color en la región 'T'.

Nota: La intensidad del color de la línea en la región 'T/G/M' puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región 'C'. No aparece ninguna línea de color en la región 'T y/o G y/o M'.

INVÁLIDO: La línea de la región 'C' no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar la prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

La prueba incluye un control interno del procedimiento. Una línea de color aparece en la región 'C' confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

- Funcionalidad de reactivos:**
 - Al igual que todas las pruebas rápidas, la funcionalidad del buffer incluido con esta prueba puede verse afectada por la contaminación ambiental, considere el tiempo establecido (3 meses después de ser abierto) para obtener resultados óptimos.
- Uso Profesional e Interpretación:**
 - Esta prueba es exclusivamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
 - Los resultados deben ser interpretados por personal calificado y no deben utilizarse como único criterio para el diagnóstico o exclusión de la infección.
 - El resultado obtenido debe considerarse en conjunto con toda la información clínica, sintomatología y antecedentes del paciente.
 - Un resultado positivo no excluye la presencia de otros patógenos.
- Alcance del Resultado (Cualitativo):**
 - Esta es una prueba cualitativa; no proporciona el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos o anticuerpos contra el virus del dengue.
 - La prueba detecta la presencia del analito en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma. El rendimiento depende directamente de la carga de antígeno/anticuerpo presente en la muestra.
- Resultados Negativos y Seguimiento:**
 - Un resultado negativo no descarta la infección por el virus del dengue. Esto puede ocurrir si:
 1. La carga viral o concentración del analito es inferior al límite de detección del ensayo.
 2. La muestra fue recolectada fuera del periodo óptimo de detección (ventana inmunológica o carga viral baja).
 - Si la sintomatología persiste, se recomienda realizar pruebas adicionales mediante métodos confirmatorios.
- Factores Técnicos:**
 - Muestras con niveles de hematocrito fuera del rango [25% - 65%] pueden alterar la precisión de los resultados.
 - Validación: El desempeño de la prueba solo está garantizado bajo las condiciones e instrucciones mencionadas en este instructivo.
- Observaciones Específicas (Particularidades):**
 - En el inicio de la infección, las concentraciones de IgM anti-dengue pueden estar por debajo de los niveles detectables.
 - Para la infección secundaria, una fracción baja de IgM anti-dengue y una fracción alta de IgG que es ampliamente reactiva a los flavivirus se presenta. La señal de IgM puede ser débil y la reacción cruzada en la región de la línea de IgG puede aparecer.
 - La reactividad cruzada serológica en el grupo de flavivirus (dengue 1, 2, 3 y 4 encefalitis de San Luis, virus del Nilo Occidental, encefalitis Japonesa, el virus de Fiebre Amarilla y el virus del Zika) es común. Los resultados positivos deben ser confirmados por otros medios.
 - La presencia o ausencia continua de anticuerpos no determina el éxito o el fracaso de la terapia.
 - Los resultados de pacientes inmunosuprimidos deben ser interpretados con precaución.

Valores esperados

La prueba rápida DENGUE NET para la detección cualitativa del antígeno NS1 del virus del dengue y anticuerpos IgG e IgM anti-dengue en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma fue comparada con una prueba ELISA comercial líder para dengue, se obtuvo una precisión global de más del 98% tanto en antígeno (NS1) como en anticuerpos (IgG/IgM).

La evaluación incluyó muestras negativas y de pacientes con infección primaria de dengue, las cuales presentan mayor probabilidad de presencia exclusiva de anticuerpos anti-IgM y con infección secundaria donde se pueden detectar niveles de anticuerpos anti-IgG más altas que IgM [4].

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba para procesar un total de 358 muestras clínicas de dengue NS1 de pacientes con síntomas y asintomáticos además de personas relativamente sanas, los resultados fueron comparados con los de una prueba ELISA para dengue. Se obtuvo lo siguiente:

Dengue NS1				
Método	ELISA			Resultado Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida DENGUE NET NS1	Positivo	82	
	Negativo	2	272	274
Resultados Totales		84	274	358

Sensibilidad Relativa: 97.62% (95% IC: 95.46% - 98.76%)

Especificidad Relativa: 99.27% (95% IC: 97.73% - 99.77%)

Precisión: 98.88% (95% IC: 97.16% - 99.56%)

Dengue IgG/IgM

Infección primaria de dengue para los resultados de las pruebas de IgG/IgM

Método	ELISA			Resultado Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida DENGUE NET IgG	Positivo	0	
	Negativo	0	28	28
Resultados Totales		0	29	29
Método	ELISA			Resultado Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida DENGUE NET IgM	Positivo	28	
	Negativo	1	0	1
Resultados Totales		29	0	29
Sensibilidad relativa IgM		96.55 %		

Infección secundaria de dengue para los resultados de las pruebas de IgG/IgM

Método	ELISA			Resultado Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida DENGUE NET IgG	Positivo	57	
	Negativo	2	0	2
Resultados Totales		59	0	59
Método	ELISA			Resultado Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida DENGUE NET IgM	Positivo	20	
	Negativo	1	37	38
Resultados Totales		21	38	59
Sensibilidad relativa IgG		96.61 %		
Sensibilidad relativa IgM		95.24 %		

Infección negativa a dengue para los resultados de las pruebas de IgG/IgM

Método	ELISA			Resultado Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida DENGUE NET IgG	Positivo	0	
	Negativo	0	291	291
Resultados Totales		0	292	292
Método	ELISA			Resultado Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida DENGUE NET IgM	Positivo	0	
	Negativo	0	290	290
Resultados Totales		0	292	292
Especificidad relativa IgG		99.66 %		
Especificidad relativa IgM		99.32 %		

Sensibilidad: 97.70% (95% IC: 95.65% - 98.80%)

Especificidad: 98.97% (95% IC: 97.36% - 99.60%)

Precisión: 98.94% (95% IC: 97.31% - 99.56%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión Intra-Ensayo

La precisión intra-ensayo se determinó usando 20 réplicas de tres muestras: un negativo, un positivo bajo y un positivo alto para el antígeno NS1. Para la determinación de anticuerpos, se usaron 20 réplicas de cinco muestras: un negativo, un positivo bajo IgG, un positivo alto IgG, un positivo bajo IgM y un positivo alto IgM. Todas las muestras fueron correctamente identificadas > 99% de las veces.

Inter-Ensayo

La precisión inter-ensayo se determinó mediante 20 ensayos independientes sobre las mismas muestras para antígeno NS1 y anticuerpos IgG/IgM. Tres diferentes lotes de esta prueba se analizaron con estas muestras. Las muestras fueron correctamente identificadas > 99% del tiempo.

Sustancias interferentes

La prueba fue evaluada con diez muestras positivas y diez muestras negativas enriquecidas con acetaminofén (20 mg/dL), ácido acetilsalicílico (20 mg/dL), ácido ascórbico (2 g/dL), bilirrubina (1 g/dL), creatina (200 mg/dL), cafeína (20 mg/dL), ácido gálico (20 mg/dL), hemoglobina (1000 mg/dL), albúmina (2 g/dL) y ácido oxálico (60 mg/dL), ninguna presentó interferencia.

Reactividad cruzada

La prueba fue evaluada con muestras positivas a HAMA, HBsAg, HBeAg, HBeAb, HbCAb, sífilis, VIH, *H. pylori*, MONO, CMV, rubéola y *T. gondii*. Los resultados no mostraron ninguna reactividad cruzada.

Referencias

- [1]. Contreras, M., Guillén, A. V., Rincón, M. A., Moreira, R., & Callejas, D. (2021). Aspectos genéticos del virus del dengue. *Qhalikay. Revista de Ciencias de la Salud* ISSN: 2588-0608, 5(2), 79-88.
- [2]. Gobierno de México. (2016). Dengue. Información general sobre el Dengue. Link: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/dengue>
- [3]. Valdivia-Conroy, B., Vasquez-Calderón, J. M., Silva-Caso, W., Martins-Luna, J., Aguilar-Luis, M. A., del Valle-Mendoza, J., & Puyén, Z. M. (2023). Rendimiento diagnóstico de la prueba rápida para la detección del antígeno NS1 y anticuerpos IgM e IgG contra el virus del dengue. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 39, 434-441.
- [4]. World Health Organization. (2025). *Laboratory testing for dengue virus: Interim guidance*.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Agente de diagnóstico para uso in vitro		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar