

DENGUE-NET

(sangre total/capilar, suero o plasma)
DNC 0325/01 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 del virus del Dengue y anticuerpos IgG e IgM anti-Dengue en muestras de sangre total/capilar, suero o plasma.

Resumen

Transmitido principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*, el dengue es un flavivirus abreviado DENV, que se transmite por la picadura de dicho mosquito infectado. Una vez ingresa buscará replicarse y dependiendo de cuál de los cuatro serotipos se trate es que el espectro de la enfermedad ira de pequeños síntomas hasta volverse potencialmente mortal. De hecho, en la actualidad se ha categorizado en Dengue y Dengue grave, el primero se caracteriza por tratarse de individuos que viven o viajan en zonas endémicas de dicho agente y presentan síntomas como náusea, cefalea, dolor retro-ocular, entre otros. A diferencia del dengue grave que destacan tres características: la extravasación de plasma sobre todo en la pleural y cavidad abdominal, hemorragia grave y compromiso grave de órganos como el hígado [1]. El diagnóstico del dengue se realiza por medio de pruebas de sangre, sin embargo, la técnica a aplicar dependerá de la evolución de la enfermedad, por ejemplo, para una infección aguda (del día 1 al 5 del inicio de los síntomas) se recomienda realizar una prueba de RT-PCR en tiempo real ó de antígeno NS1. En cambio, si se trata de una fase de recuperación o covalencia (después del día 6 del inicio de los síntomas) se debe enfocar en detectar anticuerpos IgG o IgM. También existen otras pruebas que emplean muestras como suero, líquido cefalorraquídeo o biopsia hepática. Hasta ahora no hay cura para el dengue, por lo que solo se enfoca en aliviar los síntomas [2]. Las pruebas rápidas permiten un diagnóstico rápido y oportuno, lo que permite reducir la transmisión y la complicación de la enfermedad [3].

Principio

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 es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consta de un cartucho dividido en dos secciones:

Sección NS1 Ag (Antígeno)

Contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba 'T' que tiene impreso anticuerpo de captura anti-NS1 y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por partículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos de detección anti-NS1 del virus del dengue.

Sección IgM e IgG (Anticuerpos)

Contiene una membrana dividida en tres regiones: una para cada anticuerpo, G que tiene impreso anticuerpos IgG, M que tiene impreso anticuerpos IgM y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por partículas de oro coloidal recubiertas con antígenos NS1.

Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' de cada sección del cartucho con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar. Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de anticuerpos IgG/IgM o antígeno NS1 del virus del dengue por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en la sección las regiones (IgG/IgM/NS1), esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de anticuerpos IgG y/o IgM o antígeno NS1 del virus del dengue mayores al límite de detección se formará una línea de color en la sección las regiones (IgG/IgM/NS1), esto indica un resultado positivo. La prueba tiene un control 'región C', donde siempre debe de aparecer una línea de color, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba de NS1 contiene un conjugado partículas 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 IgM e IgG contiene un conjugado partículas de oro coloidal recubiertas con antígenos de anti-NS1 del virus del dengue, anticuerpos IgM o IgG y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar 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 la bolsa está dañada.
- 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 bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrados:

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

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Sistema de toma de muestra por venopunción

Opcionales:

- Centrifugadora
- Sistema de toma de muestra por venopunción
- Lanceta (Punción capilar)
- Almohadilla con alcohol

Recolección de muestra

- Sangre

Por punción capilar:

- I. Lave la mano del paciente con agua tibia 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. Perfore la piel con una lanceta estéril 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. Con ayuda de un gotero: Presione el bulbo del gotero y coloque el extremo inferior sobre la gota de muestra, suelte el bulbo para recolectar la muestra. Nota: Evite generar burbujas de aire.

Por venopunción:

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

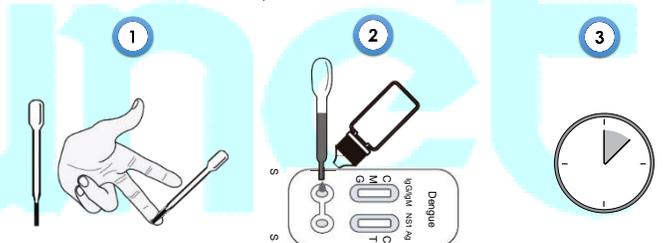
Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Las muestras de sangre pueden almacenarse por dos días máximo a una temperatura de 2-8 °C.
- Suero y plasma pueden almacenarse por máximo 3 días a una temperatura de 2-8 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben de almacenarse por debajo de los -20 °C.
- No congelar las muestras de sangre a excepción del suero o plasma, recuerde evitar ciclos de congelación y descongelación repentinos y 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, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

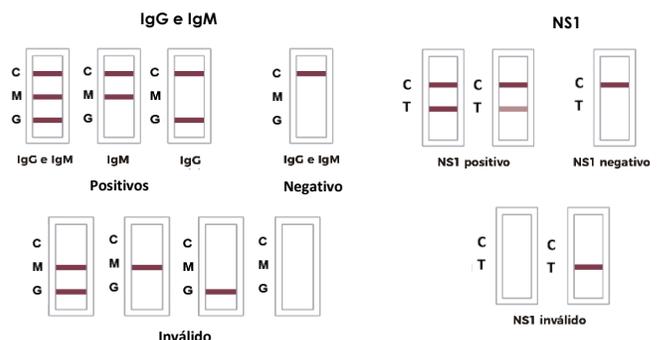
Instrucciones de uso

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

1. Obtenga la muestra cómo se indicó en la sección 'Recolección de muestra'
2. Coloque la muestra y la solución de corrimiento en cada pozo 'S' del cartucho como se indica:
Prueba IgG/IgM
Para muestras de **suero o plasma**
- Coloque 2 gotas de muestra (aproximadamente 30 µL).
- Agregue 3 gotas de solución de corrimiento (aproximadamente 120 µL).
Para muestras de **sangre total/capilar**
- Coloque 2 gotas de muestra (aproximadamente 30 µL).
- Agregue 2 gotas de solución de corrimiento (aproximadamente 80 µL).
Prueba NS1
Para muestras de **suero o plasma**
- Coloque 1 gota de muestra (aproximadamente 15 µL).
- Agregue 2 gotas de solución de corrimiento (aproximadamente 80 µL).
Para muestras de **sangre total/capilar**
- Coloque 2 gotas de sangre (aproximadamente 30 µL).
- Agregue 1 gota de solución de corrimiento (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: No utilizar el buffer después de 3 meses de haber sido abierto.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO NS1: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región T.
IgG/IgM POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y dos líneas de color en la región G y M.

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

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

Nota: La intensidad del color de la línea en las regiones T y/o G y/o 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 las regiones 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 el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. 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

- Como con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse con otra información clínica disponible para el médico.
- Si el resultado de la prueba es negativo y la sintomatología persiste, se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos.
- La prueba rápida está diseñada para funcionar con niveles de hematócrito entre 25% y 65%. El análisis de muestras con un nivel de hematócrito diferente puede llevar a resultados erróneos.
- La prueba rápida DENGUE-NET sólo indican la presencia de antígeno Dengue NS1 y anticuerpos contra el dengue presentes en la muestra y no deben utilizarse como único criterio para el diagnóstico de Dengue.
- Un resultado de prueba negativo para Dengue NS1 no excluye la posibilidad de exposición o infección por virus de dengue.
- Un resultado negativo para el Dengue NS1 puede ocurrir si la cantidad de antígeno de dengue presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo o si el antígeno detectado no está presente durante la etapa de la enfermedad en la que se recolecta la muestra.
- Algunas muestras que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o el factor reumatoide puede afectar los resultados esperados en la prueba de antígeno NS1.
- Los resultados obtenidos con esta prueba sólo deben interpretarse conjuntamente con otros procedimientos diagnósticos y hallazgos clínicos.
- 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 fue comparada con una prueba comercial en Dengue EIA, se obtuvo una precisión global de 96%.

La infección primaria por dengue se caracteriza por la presencia de anticuerpos IgM detectables a los 3-5 días después de la aparición de la infección. La infección secundaria por dengue es caracterizada por la elevación de IgG específica al dengue, en la mayoría de los casos, esto se acompaña de niveles elevados de IgM. La prueba rápida DENGUE-NET ha sido comparado con una prueba comercial líder en Dengue ELISA, demostrando una sensibilidad del 83.3% para la IgM en la infección primaria y 98.4% para la IgG en la infección secundaria.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida DENGUE-NET para procesar un total de 358 muestras, los resultados han sido comparados con una prueba ELISA de antígeno de dengue con muestras clínicas de Dengue NS1. Se ha evaluado con muestras obtenidas de una población de pacientes sintomáticos y asintomáticos. Los resultados se presentan a continuación:

Dengue NS1				
Método	Dengue Ag ELISA		Resultado	
Prueba rápida DENGUE-NET NS1	Resultados	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	82	2	84
	Negativo	2	272	274
Resultados Totales			84	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 IgM/IgG

Infección primaria de dengue para los resultados de las pruebas de IgM/ IgG				
Método	Dengue Ag ELISA		Resultado	
Prueba rápida DENGUE-NET IgG	Resultados	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	0	1	1
	Negativo	0	28	28
Resultados Totales			0	29
Método	Dengue Ag ELISA		Resultado	
Prueba rápida DENGUE-NET IgM	Resultados	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	28	0	28
	Negativo	1	0	1
Resultados Totales			29	29
Sensibilidad relativa IgM			96.55 %	

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

Método	Dengue Ag ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE-NET IgG	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	57	0
	Negativo	2	0
Resultados Totales			59
Método	Dengue Ag ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE-NET IgM	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	20	1
	Negativo	1	37
Resultados Totales			21
Sensibilidad relativa IgG			96.55 %
Sensibilidad relativa IgM			95.24 %

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

Método	Dengue Ag ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE-NET IgG	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	0	1
	Negativo	0	291
Resultados Totales			0
Método	Dengue Ag ELISA		Resultado
Prueba rápida DENGUE-NET IgM	Resultados	Positivo	Negativo
	Positivo	0	2
	Negativo	0	290
Resultados Totales			0
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% - 99.59%)

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 rápida DENGUE-NET fue probada con diez muestras positivas y diez muestras negativas enriquecidas con Acetaminofén, Ácido Acetilsalicílico, Ácido Ascórbico, Bilirrubina, Creatina, Cafeína, Ácido Géntísico, Hemoglobina, Albúmina y Ácido oxálico, no presento ninguna interferencia.

Reactividad cruzada

La prueba rápida DENGUE-NET ha sido probada con muestras positivas de HAMA, HBSAb, HBeAg, HBeAb, HbcAb, sífilis, VIH, H. Pylori, MONO, CVM, rubéola y TOXO. Los resultados no mostraron ninguna reactividad cruzada.

Referencias

- 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.
- Gobierno de México. (2016). Dengue. Información general sobre el Dengue. Link: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/dengue>
- 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.

Índice de símbolos

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

	Caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	No reutilizar