

## Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma)

### Instruções de Uso

REF IDEC-425 | Português

Teste rápido para teste qualitativo para a detecção do antígeno NS1, anticorpos IgG e IgM do vírus da dengue em sangue total humano, soro ou plasma. Apenas para uso profissional de diagnóstico in vitro.

#### 【USO PRETENDIDO】

O Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) é um imunoenensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa do antígeno NS1 e anticorpos IgG e IgM do vírus da dengue em sangue total humano, soro ou plasma como um auxílio no diagnóstico de infecções por dengue.

#### 【SUMÁRIO】

A dengue é um flavivírus, transmitido pelos mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. É amplamente distribuído nas áreas tropicais e subtropicais do mundo,<sup>1</sup> e causa até 100 milhões de infecções anualmente.<sup>2</sup> A infecção por dengue clássica é caracterizada por um início súbito de febre, cefaleia intensa, mialgia, artralgia e erupção cutânea.

A infecção primária por dengue faz com que os anticorpos IgM aumentem para um nível detectável 3 a 5 dias após o início da febre. Os anticorpos IgM geralmente persistem por 30 a 90 dias.<sup>3</sup> A maioria dos pacientes com dengue em regiões endêmicas tem infecções secundárias,<sup>4</sup> resultando em altos níveis de anticorpos IgG específicos antes ou simultaneamente com a resposta IgM.<sup>5</sup> Portanto, a detecção de anticorpos específicos anti-dengue IgM e IgG também pode ajudar a distinguir entre infecções primárias e secundárias.

A NS1 é uma das 7 proteínas não estruturais do vírus da dengue que se acredita estarem envolvidas na replicação viral. A NS1 existe como um monômero na sua forma imatura, mas é rapidamente processada no retículo endoplasmático para formar um dímero estável. Uma pequena quantidade de NS1 permanece associada a organelos intracelulares, onde se acredita que esteja envolvida na replicação viral. O resto da NS1 é encontrado associado à membrana plasmática ou secretado como um hexámero solúvel. A NS1 é essencial para a viabilidade viral, mas sua função biológica precisa é desconhecida. Anticorpos produzidos em resposta à NS1 na infecção viral podem apresentar reação cruzada com antígenos de superfície celular em células epiteliais e plaquetas e isso tem sido implicado no desenvolvimento da febre hemorrágica da dengue.

O Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) é um teste rápido que utiliza uma combinação de antígeno NS1, anticorpos IgG e IgM do vírus da dengue em sangue total humano, soro ou plasma.

#### 【PRINCÍPIO】

O Teste Rápido para Dengue IgG/IgM (Sangue Total/Soro/Plasma) é um imunoenensaio qualitativo baseado em membrana para a detecção de anticorpos da dengue em sangue total, soro ou plasma. Este teste consiste em dois componentes, um componente IgG e um componente IgM. No componente IgG, o IgG anti-humano é revestido na região da linha de teste de IgG. Durante o teste, a amostra reage com partículas revestidas com antígeno da dengue na cassete de teste. A mistura migra então cromatograficamente para cima na membrana por ação capilar e reage com o IgG anti-humano na região da linha de teste de IgG. Se a amostra contiver anticorpos IgG para dengue, uma linha colorida aparecerá na região da linha de teste de IgG. No componente IgM, o IgM anti-humano é revestido na região da linha de teste de IgM. Durante o teste, a amostra reage com IgM anti-humano. Os anticorpos IgM da dengue, se presentes na amostra, reagem com o IgM anti-humano e as partículas revestidas com antígeno da dengue no cassete de teste, e este complexo é capturado pelo IgM anti-humano, formando uma linha colorida na região da linha de teste IgM. Se a amostra contiver anticorpos IgG de dengue, uma linha colorida aparecerá na região da linha de teste IgG. Se a amostra contiver anticorpos IgM de dengue, uma linha colorida aparecerá na região da linha de teste IgM. Se a amostra não contiver anticorpos de dengue, nenhuma linha colorida aparecerá em nenhuma das regiões da linha de teste, indicando um resultado negativo. Para servir como controle do procedimento, uma linha colorida sempre aparecerá na região da linha de controle, indicando que o volume adequado de amostra foi adicionado e a absorção da membrana ocorre.

O Teste Rápido para Dengue NS1 (Sangue Total/Soro/Plasma) é um imunoenensaio qualitativo baseado em membrana para a detecção de anticorpos de dengue NS1 em sangue total, soro ou plasma. Durante o teste, a amostra reage com o conjugado de anticorpo da dengue no cassete de teste. O conjugado de anticorpo com ouro ligar-se-á ao antígeno da dengue na amostra que, por sua vez, se ligará ao NS1 anti-dengue revestido na membrana. À medida que o reagente se move pela membrana, o anticorpo NS1 da dengue na membrana liga-se ao complexo antígeno-anticorpo, fazendo com que uma linha rosa clara ou escura se forme na região da linha de teste da membrana de teste. A intensidade das linhas irá variar, dependendo da quantidade de antígeno presente na amostra. O aparecimento de linha rosa na região de teste deve ser considerado um resultado positivo.

#### 【REAGENTES】

O Teste Rápido Dengue IgG/IgM contém partículas de ouro coloidal conjugado com antígeno da Dengue, IgM anti-humano, IgG anti-humano revestido na membrana.

O Teste Rápido para Dengue NS1 contém partículas coloidais conjugadas com anti-Dengue Ag, revestidas com anti-Dengue Ag na membrana.

#### 【PRECAUÇÕES】

- Apenas para uso profissional de diagnóstico in vitro. Não utilizar o produto após a data de validade.
- Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras ou kits são manuseados.
- Manusear qualquer amostra como potencialmente infecciosa. Observar as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos ao longo do procedimento. Siga os procedimentos padrão para a eliminação correta das amostras.

• Utilizar roupas de proteção, tais como batas de laboratório, luvas descartáveis e proteção ocular, quando as amostras forem analisadas.

• A umidade e temperatura podem afetar adversamente os resultados.

#### 【ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE】

O kit pode ser armazenado à temperatura ambiente ou refrigerado (2-30 °C). O cassete de teste é estável até à data de validade impressa na embalagem selada. O cassete de teste deve permanecer na embalagem selada até à sua utilização. **NÃO CONGELAR.** Não utilizar depois da data de validade. A solução tampão é estável por até 06 meses após aberta.

#### 【COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS】

- O Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) pode ser realizado usando sangue total, soro ou plasma.
- Para coletar amostras de sangue total por punção digital:
  - Lave a mão do paciente com sabão e água morna ou limpe com algodão embebido em álcool. Deixe secar.
  - Massageie a mão sem tocar no local da punção, esfregando a mão em direção à ponta do dedo do meio ou do anelar.
  - Perfure a pele com uma lanceta esterilizada. Limpe o primeiro sinal de sangue.
  - Esfregue suavemente a mão do pulso à palma e ao dedo para formar uma gota arredondada de sangue sobre o local da punção.
- Adicione a amostra de sangue total por punção digital ao cassete de teste usando um conta-gotas ou micropipeta de 5µl medindo 10µl e um conta-gotas ou micropipeta de 25µl medindo 75µl. Os conta-gotas de 5 µl ou 25 µl fornecidos com o teste dispensam aproximadamente 10 µl ou 25 µl numa gota, mesmo se mais sangue for aspirado no conta-gotas.
- Separe o soro ou plasma do sangue o mais rápido possível para evitar hemólise. Utilize apenas amostras claras e não hemolisadas.
- O teste deve ser realizado imediatamente após a coleta da amostra. Não deixe as amostras à temperatura ambiente por períodos prolongados. As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas entre 2 e 8°C até um máximo de 3 dias. Para um armazenamento prolongado, as amostras devem ser mantidas abaixo dos -20°C. O sangue total recolhido por punção venosa deve ser armazenado entre 2 e 8°C, se o teste for realizado no intervalo de 2 dias após a coleta. Não congele amostras de sangue total. O sangue total coletado por picada no dedo deve ser testado imediatamente.
- Coloque as amostras à temperatura ambiente antes de testar. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes da análise. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.
- Se as amostras tiverem de ser transportadas, devem ser embaladas em conformidade com a legislação em vigor que abrange o transporte de agentes etiológicos.
- EDTA K2, heparina sódica, citrato de sódio e oxalato de potássio podem ser usados como anticoagulante para a coleta da amostra.

#### 【MATERIAIS】

##### Materiais fornecidos

- Cassetes de teste
- Conta-gotas
- Tampão
- Instrução de Uso

##### Materiais necessários, mas não fornecidos

- Recipientes para coleta de amostras
- Centrífuga
- Micropipeta
- Temporizador
- Lancetas (apenas para punção digital de sangue total)

#### 【INSTRUÇÕES DE USO】

Deixe que o teste, a amostra, o tampão e / ou controles atinjam a temperatura ambiente (15-30°C) antes do teste.

1. Deixe a embalagem ficar à temperatura ambiente antes de a abrir. Remova o cassete de teste da embalagem selada e use-o dentro de 1 hora.
2. Coloque o cassete de teste numa superfície limpa e plana.

➢ Para amostra de **soro ou plasma**:

##### Para IgG/IgM:

- Para usar um conta-gotas: segure o conta-gotas verticalmente, retire a amostra até a linha de preenchimento (aproximadamente 5µl) e transfira a amostra para o **poço da amostra (S)** do cassete de teste, em seguida, adicione **3 gotas de tampão** (aproximadamente 120µl) para o **poço de tampão (B)** e inicie o cronômetro. Evite a formação de bolhas no poço da amostra.

- Para usar uma micropipeta: Pipete e dispense **5 µl de soro ou plasma na cavidade da amostra (S)** do cassete de teste e, em seguida, adicione **3 gotas de tampão** (aproximadamente 120 µl) na cavidade ou **poço do tampão (B)** e inicie o cronômetro.

##### Para NS1:

- Segure o conta-gotas verticalmente e transfira **3 gotas de soro ou plasma** (aproximadamente 75µl) para o poço da amostra (S) e inicie o cronômetro. Veja a imagem abaixo.
- Para amostra de **sangue total (punção venosa / punção digital)**:

##### Para IgG/IgM:

- Para usar um conta-gotas: segure o conta-gotas verticalmente, extraia a amostra **até cerca de 1 cm acima da linha de preenchimento** e transfira **1 gota de sangue total** (aproximadamente 10 µl) para o **poço de amostra (S)** dos cassetes de teste e, em seguida, adicione **3 gotas de tampão** (aproximadamente 120 µl) para o **poço do tampão (B)** e inicie o cronômetro. Veja a imagem abaixo.

- Para usar uma micropipeta: Pipete e dispense **10 µl de soro ou plasma na cavidade da amostra (S)** do cassete de teste e, em seguida, adicione **3 gotas de tampão** (aproximadamente 120 µl) na cavidade ou **poço do tampão (B)** e inicie o cronômetro. Veja a imagem abaixo.

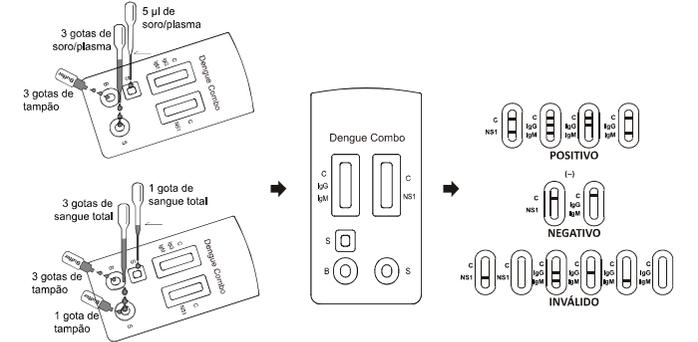
##### Para NS1:

- Para usar um conta-gotas: segure o conta-gotas verticalmente e transfira **3 gotas de sangue total** (aproximadamente 75 µl) para o(s) poço(s) da amostra, em seguida, **adicione 1 gota de tampão** (aproximadamente 40 µl) e inicie o cronômetro. Veja a imagem abaixo.

- Para usar um tubo capilar: Encha o tubo capilar e transfira aproximadamente 75 µl da amostra de sangue total por punção digital para o(s) poço(s) da amostra do cassete de teste, em seguida, adicione **1 gota de tampão** (aproximadamente 40 µl) e inicie o cronômetro. Veja a imagem abaixo.

3. **Leia os resultados em 10 minutos**, não interprete os resultados após 20 minutos.

**Nota:** Sugere-se não usar o tampão além de 6 meses após a abertura do frasco.



#### 【INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS】

(Consulte a imagem acima)

**IgM POSITIVO:** \* **Aparecem duas linhas coloridas distintas.** Uma linha deve estar na região de controle (C) e outra linha deve estar na região de teste (T).

**IgG e IgM POSITIVO:** \* **Aparecem três linhas coloridas distintas.** Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C) e duas linhas coloridas devem aparecer na região da linha de teste de IgG e na região da linha de teste de IgM. As intensidades de cor das linhas não precisam ser iguais. O resultado é positivo para anticorpos IgG e IgM, indicando estágio final da infecção por dengue primária e estágio inicial da infecção por dengue secundária.

**IgG POSITIVO:** \* **Aparecem duas linhas coloridas distintas.** Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C), e uma linha colorida aparece na região da linha de teste de IgG. O resultado é positivo para IgG específica para o vírus da dengue e provavelmente é indicativo de infecção secundária da dengue.

**IgM POSITIVO:** \* **Aparecem duas linhas coloridas distintas.** Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C), e uma linha colorida aparece na região da linha de teste de IgM. O resultado é positivo para anticorpos IgM específicos para o vírus da dengue e é indicativo de infecção primária de dengue.

\* **NOTA:** A intensidade da cor na região da linha de teste (NS1 e / ou IgG e / ou IgM) irá variar, dependendo da concentração do antígeno NS1 da dengue e / ou IgG e / ou IgG presente na amostra. Portanto, qualquer tom de rosa na região de teste deve ser considerado positivo.

**NEGATIVO:** Aparece uma linha colorida na zona de controle (C). **Não aparece nenhuma na zona de teste (T).**

**INVÁLIDO:** A linha de controle não aparece. Um volume de amostra insuficiente ou a utilização de técnicas incorretas durante o procedimento são as razões mais prováveis para que a linha de controle não apareça. Rever o procedimento e repetir o teste com um novo cassete de teste. Se o problema persistir, interrompa imediatamente a utilização do kit de teste e contacte o seu distribuidor local.

#### 【CONTROLE DE QUALIDADE】

Os controles de procedimento interno estão incluídos no teste. Uma linha colorida que aparece na região de controle (C) é um controle de procedimento interno positivo. Confirma o volume de amostra suficiente e uma técnica de procedimento correta.

Os padrões de controle não são fornecidos com este kit. No entanto, como boa prática de laboratório, recomenda-se que os controles positivos e negativos sejam testados para confirmar o procedimento do teste e verificar o desempenho adequado do teste.

#### 【LIMITAÇÕES】

1. O Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) indicará apenas a presença do antígeno NS1 da dengue e anticorpos da dengue na amostra e não deve ser usado como único critério para o diagnóstico de dengue.
2. O Procedimento de Ensaio e a Interpretação do Resultado do Ensaio devem ser seguidos de perto ao testar a presença de anticorpos contra dengue no soro ou plasma de indivíduos. O não cumprimento do procedimento pode gerar resultados imprecisos.
3. Um resultado de teste negativo para Dengue NS1 não exclui a possibilidade de exposição ou infecção por vírus da dengue.
4. Pode ocorrer um resultado negativo para Dengue NS1 se a quantidade de anticorpos de dengue presentes na amostra estiver abaixo dos limites de detecção do ensaio, ou se os anticorpos contra dengue detectados não estiverem presentes durante o estágio da doença em que a amostra é coletada.
5. Algumas amostras que contenham títulos excepcionalmente altos de anticorpos heterofílicos ou fator reumatoide podem afetar os resultados esperados.
6. Se o sintoma persistir, enquanto o resultado do Teste Rápido para Dengue NS1 for

negativo ou não reativo, é recomendável fazer uma nova coleta ao paciente alguns dias depois ou testar com um dispositivo de teste alternativo, como PCR ou ELISA.

- Os resultados obtidos com este teste só devem ser interpretados em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico e resultados clínicos.
- No início precoce da febre, as concentrações de IgM anti-dengue podem estar abaixo dos níveis detectáveis. Para infecção primária, um ensaio imunoenzimático de absorção de anticorpos IgM (MACELISA) mostrou que 80% dos pacientes com dengue testados exibiram níveis detectáveis de anticorpos IgM no quinto dia após a infecção, e 99% dos pacientes testados com IgM positiva ao 10º dia. Recomenda-se que os pacientes sejam testados neste período. Para a infecção secundária, uma fração molar baixa de IgM anti-dengue e uma fração molar alta de IgG que é amplamente reativa a flavivírus caracterizam os anticorpos. O sinal de IgM pode ser fraco e pode aparecer reação cruzada na região da linha de IgG.
- É comum a reatividade sorológica cruzada no grupo dos flavivírus (Dengue 1, 2, 3 e 4, encefalite de St. Louis, vírus do Nilo Ocidental, encefalite japonesa e vírus da febre amarela).<sup>6,7,8</sup> Resultados positivos devem ser confirmados por outros meios.
- A presença ou ausência contínua de anticorpos não pode ser usada para determinar sucesso ou falha terapêutica.
- Os resultados de pacientes imunossuprimidos devem ser interpretados com cautela.
- Como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas ao dispor do médico.
- Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, são recomendados testes adicionais utilizando outros métodos clínicos. Um resultado negativo em nenhum momento exclui a possibilidade de infecção por dengue.

#### 【VALORES ESPERADOS】

O Teste Rápido Dengue NS1 foi comparado com um teste ELISA comercial para Dengue Ag. A correlação entre esses dois sistemas é de 92,5%.

A infecção primária por dengue é caracterizada pela presença de anticorpos IgM detectáveis 3-5 dias após o início da infecção. A infecção secundária da dengue é caracterizada pela elevação da IgG específica da dengue. Na maioria dos casos, isso é acompanhado por níveis elevados de IgM.

O Teste Rápido para Dengue IgG/IgM foi comparado com um teste ELISA comercial para dengue, demonstrando sensibilidade de 83,3% para IgM na infecção primária e 98,4% para IgG na infecção secundária.

#### 【CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO】

##### Sensibilidade e Especificidade

O Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) comparada com um dos principais testes ELISA comerciais de Dengue utilizando amostras clínicas de Dengue e foi avaliada com amostras obtidas de uma população de indivíduos sintomáticos e assintomáticos. Os resultados foram confirmados por um dos principais testes ELISA comerciais de Dengue.

Os resultados mostram que a sensibilidade relativa da Teste Rápido para Dengue NS1 (Sangue Total/Soro/Plasma) é 95,8%, e a especificidade relativa é 90,9%. E a sensibilidade relativa do Dengue IgG é 98,4%, a sensibilidade relativa do Dengue IgM é 75,0%, e a especificidade relativa do Dengue IgG é 98,5%, a especificidade relativa do Dengue IgM é 99,8%.

#### Dengue IgG

##### Resultados da Dengue IgG

Método	Resultados	Teste ELISA		Resultado Total
		Positivo	Negativo	
Teste Rápido Combinado para Dengue (Sangue Total/Soro/Plasma)	Positivo	63	8	71
	Negativo	1	525	526
Resultado Total		64	533	597

Sensibilidade relativa: 98,4 (IC 95% \*: 91,6%->99,9%)

Especificidade relativa: 98,5% (IC 95% \*: 97,1%-99,4%)

Precisão: 98,5% (IC 95% \*: 97,2%-99,3%)

\*Intervalos de confiança

#### Dengue IgM

##### Resultados da Dengue IgM

Método	Resultados	Teste ELISA		Resultado Total
		Positivo	Negativo	
Teste Rápido Combinado para Dengue (Sangue Total/Soro/Plasma)	Positivo	66	1	67
	Negativo	22	532	554
Resultado Total		88	533	621

Sensibilidade relativa: 75,0% (IC 95%\*: 64,6%-83,6%)

Especificidade relativa: 99,8% (IC 95%\*: 99,0%->99,9%)

Precisão: 96,3% (IC 95%\*: 94,5%-98,0%)

\*Intervalos de confiança

#### Dengue NS1

Método	Resultados	Teste ELISA de Dengue Ag		Resultado Total
		Positivo	Negativo	
Teste Rápido Combinado para Dengue (Sangue Total/Soro/Plasma)	Positivo	137	28	165
	Negativo	6	280	286
Resultado Total		143	308	451

Sensibilidade relativa: 95,8% (IC 95%\*91,1%-98,4%)

Especificidade relativa: 90,9% (IC 95%87,1%-93,9%)

Precisão: 92,5% (IC 95% 89,6%-94,7%)

#### Precisão

##### Intra-ensaio

A precisão intra-ensaio foi determinada usando 15 réplicas de amostras de dengue. As amostras foram identificados corretamente > 99% das vezes.

##### Inter-ensaio

A precisão entre ensaios foi determinada por 15 ensaios independentes nas mesmas amostras de dengue. Foram testados três lotes diferentes do cassete de Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) com essas amostras. As amostras foram identificados corretamente > 99% das vezes.

##### Reatividade cruzada

O Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) foi testado por amostras positivas de HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HbCAb, anti-sífilis, anti-HIV, HCV, anti-H. Pylori, anti-MONO, anti-CMV, anti-Rubéola e anti-TOXO. Os resultados não mostraram reatividade cruzada.

Em caso de dúvidas, testes adicionais devem ser feitos para confirmar dengue ou outras doenças causadas por vírus da família Flaviviridae.

##### Substâncias interferentes

Foram adicionadas as seguintes substâncias potencialmente interferentes a amostras negativas de dengue.

Paracetamol: 20 mg/dL	Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL	Ácido Ascórbico: 2g/dL
Bilirrubina: 1g/dL	Creatina: 200 mg/dL	Cafeína: 20 mg/dL
Ácido Gêntísico: 20 mg/dL	Hemoglobina 1000mg/dL	Albumina: 2 g/dL
Ácido oxálico: 60mg/dL		

Nenhuma das substâncias nas concentrações testadas interferiu no ensaio.

#### 【BIBLIOGRAFIA】

- Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6: 251-264.
- Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481.
- Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Japanese J. Trop. Med. Hygiene 1994; 22: 9-12
- Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. Rev. Med. Micro. 1995; 6:39-48
- Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization
- Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. Wien Med Wochenschr (in German). 1997; 147(19-20): 463-4
- Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.

#### Índice de Símbolos

 IVD	Para <i>in vitro</i> uso diagnóstico apenas	 Testes por kit	 REF	Número de Catálogo
 2°C-30°C	Armazenar entre 2-30°C	 Utilizar até	 Não reutilizar	
 Não usar se a embalagem estiver danificada		 Número de Lote		
 Fabricante		 Consulte as Instruções de Uso		

