

Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma)

Instruções de Uso

REF IDEN-402 | Português

Teste rápido para a detecção qualitativa de anticorpos (IgG e IgM) para o vírus da dengue em sangue total, soro ou plasma.

Apenas para uso profissional de diagnóstico *in vitro*.

USO PRETENDIDO

O Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) é um imunoenensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa dos anticorpos IgG e IgM do vírus da Dengue em sangue total humano, soro ou plasma como auxílio ao diagnóstico de infecções primária e secundária 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,¹ e causa até 100 milhões de infecções anualmente.² A infecção por dengue clássica é caracterizada por um início súbito de febre, cefaleia intensa, mialgia, artralgia e erupção cutânea. A infecção primária da 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.³ A maioria dos pacientes com dengue em regiões endêmicas têm infecções secundárias,⁴ resultando em altos níveis de anticorpos IgG específicos antes ou simultaneamente com a resposta IgM.⁵ Portanto, a detecção de anticorpos específicos anti-dengue IgM e IgG também pode ajudar a distinguir entre infecções primárias e secundárias.

O Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) é um teste rápido que utiliza uma combinação de partículas coloridas revestidas com antígeno da dengue para a detecção de anticorpos IgG e IgM contra dengue em sangue total humano, soro ou plasma.

PRINCÍPIO

O Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) é um imunoenensaio qualitativo à base de membrana para a detecção de anticorpos da dengue no 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 no 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 aparecerá na região da linha de controle, indicando que o volume adequado de amostra foi adicionado e a absorção da membrana ocorreu.

REAGENTES

O cassete de teste contém partículas de ouro coloidal conjugado com antígeno de dengue e IgM anti-humano, IgG anti-humano revestido 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. Observe 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 a 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.

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 medindo 10µL. O conta-gotas fornecido com o teste dispensa cerca de 10µL 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. Use 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 a 2-8°C por até 3 dias; para armazenamento de longo prazo, as amostras devem ser mantidas abaixo de -20°C. O sangue total coletado por punção venosa deve ser armazenado entre 2 e 8°C se o teste for realizado até 2 dias após a coleta. Não congele amostras de sangue total. O sangue total recolhido por picada no dedo deve ser testado imediatamente.
- Coloque as amostras à temperatura ambiente antes de testar. Amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes do teste. 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
- Tampão
- Conta-gotas
- Instruções de Uso

Materiais necessários, mas não fornecidos

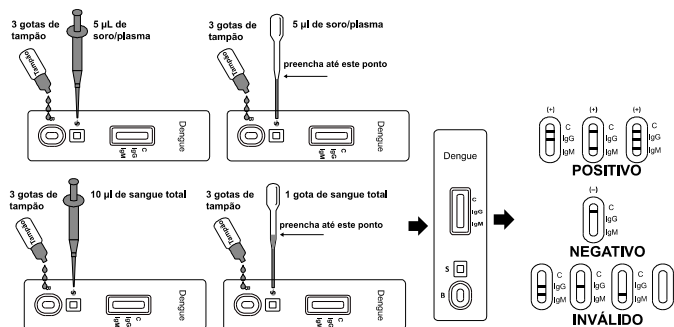
- Recipientes de coleta de amostras
- Micropipeta
- Lancetas (apenas para punção digital de sangue total)
- Centrífuga
- Temporizador

INSTRUÇÕES DE USO

Deixe que o cassete de 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 abri-la. Remova o cassete de teste da embalagem selada e use-a dentro de 1 hora.
2. Coloque o cassete de teste numa superfície limpa e plana.
 - Para amostras de soro ou plasma:
 - Para usar um conta-gotas: segure o conta-gotas verticalmente, extraia a amostra até a linha de preenchimento (aproximadamente 5 µL) e transfira a amostra para o poço da amostra (S) do cassete de teste, em seguida, **adicione 3 gotas de tampão** (aproximadamente 120µL) no poço do tampão (B) e inicie o cronômetro. Evite a formação de bolhas no poço da amostra (S).
 - Para usar uma micropipeta: Pipete e dispense 5 µL da amostra no poço da amostra (S) da cassete de teste, em seguida, **adicione 3 gotas de tampão** (aproximadamente 120 µL) no poço do tampão (B) e inicie o cronômetro.
 - Para amostras de sangue total (punção venosa/punção digital):
 - Para usar um conta-gotas: segure o conta-gotas verticalmente, coloque a amostra (S) cerca de 1 cm acima da linha de preenchimento e transfira 1 gota de sangue total (aproximadamente 10 µL) para o poço de amostra do cassete de teste, em seguida, **adicione 3 gotas de tampão** (aproximadamente 120 µL) no poço do tampão (B) e inicie o cronômetro.
 - Para usar uma micropipeta: Pipete e dispense 10 µL de sangue total no poço da amostra (S) do cassete de teste, em seguida, **adicione 3 gotas de tampão** (aproximadamente 120 µL) no poço do tampão (B) e inicie o cronômetro.
3. Aguarde até que as linhas coloridas apareçam. O resultado do teste deve ser lido em 10 minutos. Não ler o resultado depois de 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)

IgG e IgM POSITIVO: * **Aparecem três linhas.** Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C),

e duas linhas coloridas devem aparecer na região da linha de teste IgG e na região da linha de teste 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.

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

POSITIVO IgM: * **Duas linhas aparecem.** Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C), e uma linha colorida aparece na região da linha de teste 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(s) região(ões) da linha de teste de IgG e/ou IgM irá variar, dependendo da concentração de anticorpos da dengue na amostra. Portanto, qualquer tom de cor na(s) região(ões) da linha de teste IgG e/ou IgM deve ser considerada positiva.

NEGATIVO: **Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C).** Nenhuma linha aparece na(s) região(ões) da linha de teste de IgG e IgM.

INVÁLIDO: **A linha de controle não aparece.** Um volume de tampão insuficiente ou 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

Está incluído um controle interno no teste. Uma linha colorida que aparece na região da linha de controle (C) é um controle de procedimento interno válido, confirmando o volume de tampão suficiente e a absorção de membrana adequada.

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 seu desempenho adequado.

LIMITAÇÕES

1. O Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) é apenas para diagnóstico *in vitro*. O teste deve ser usado para a detecção de anticorpos da dengue em amostras de sangue total, soro ou plasma apenas. Nem o valor quantitativo, nem a taxa de aumento na concentração de anticorpos da dengue podem ser determinados por este teste qualitativo.
2. O Teste Rápido Combinado para Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) indicará apenas a presença de anticorpos da dengue na amostra e não deve ser usado como único critério para o diagnóstico de dengue.
3. 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 exibiam níveis detectáveis de anticorpos IgM no quinto dia após a infecção, e 99% dos pacientes testados tinham IgM positivo 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.⁵ O sinal de IgM pode ser fraco e pode aparecer reação cruzada na região da linha de IgG.
4. 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).^{6, 7, 8} Resultados positivos devem ser confirmados por outros meios.
5. A presença ou ausência contínua de anticorpos não pode ser usada para determinar sucesso ou falha terapêutica.
6. Os resultados de pacientes imunossuprimidos devem ser interpretados com cautela.
7. Como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas ao dispor do médico.
8. 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.
9. O hematócrito do sangue total deve estar entre 25% e 65%.

VALORES ESPERADOS

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.⁵

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade e Especificidade

O Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) foi avaliado com amostras obtidas de uma população de indivíduos sintomáticos e assintomáticos. Os resultados foram confirmados por um teste ELISA comercial líder para dengue.

Resultado de IgG

Método	ELISA			Totais
	Resultados	Positivo	Negativo	
Teste Rápido de Dengue em Cassete para IgG (Sangue Total/Soro/Plasma)	Positivo	63	8	71
	Negativo	1	525	526
	Totales Resultados	64	533	597

Sensibilidade relativa: 98.4% (95%CI*: 91.6%->99.9%)

Especificidade relativa: 98.5% (95%CI*: 97.1%-99.4%)

Precisão: 98.5% (95%CI*: 97.2%-99.3%)

*Intervalos de confiança

Resultado de IgM

Método	ELISA			Totais
	Resultados	Positivo	Negativo	
Teste Rápido de Dengue em Cassete para IgM (Sangue Total/Soro/Plasma)	Positivo	66	1	67
	Negativo	22	532	554
	Totales Resultados	88	533	621

Sensibilidade relativa: 75.0% (95%CI*: 64.6%-83.6%)

Especificidade relativa: 99.8% (95%CI*: 99.0%->99.9%)

Precisão: 96.3% (95%CI*: 94.5%-98.0%)

*Intervalos de confiança

Precisão Intra-ensaio

A precisão intra-ensaio foi determinada usando 15 réplicas de quatro amostras: uma negativa, uma IgG positiva, uma IgM positiva e uma IgG/IgM dupla positiva. As amostras foram identificadas corretamente > 99% das vezes.

Entre-ensaio

A precisão entre ensaios foi determinada por 15 ensaios independentes nas mesmas quatro amostras: um negativo, um IgG positivo, um IgM positivo e um IgG/IgM duplo positivo. Foram testados três lotes diferentes de Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) com essas amostras. As amostras foram identificadas corretamente > 99% das vezes.

Reatividade cruzada

O Teste Rápido de Dengue em Cassete (Sangue Total/Soro/Plasma) foi testado com amostras positivas de HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, Sífilis, HIV, *H. Pylori*, MONO, CMV, Rubéola e TOXO. Os resultados não mostraram reatividade cruzada.

O Teste Rápido de Dengue pode apresentar reação cruzada com as amostras de IgG de Chikungunya, IgG do zika vírus e IgG da febre amarela.

Substâncias interferentes

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









Paracetamol: 20 mg/dL	Cafeína: 20 mg/dL
Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL	Ácido genticico: 20 mg/dL
Ácido ascórbico: 2g/dL	Albumina: 2 g/dL
Creatina: 200 mg/dL	Hemoglobina: 1000 mg/dL
Bilirrubina: 1g/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 infections. 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		 LOT		
 Fabricante		 Consulte as Instruções de Uso		

