



DENGUE IgG/IgM INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO

Ensaio Imunocromatográfico.

FINALIDADE

O teste rápido de Dengue IgG/IgM é um imunoensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa de anticorpos IgG e IgM do vírus da dengue em sangue total, soro ou plasma humano. É destinado ao auxílio no diagnóstico de dengue primária e infecções secundárias. Apenas para uso profissional em diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A dengue é um flavivirus, transmitido pelos mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. É amplamente distribuída nas áreas tropicais e subtropicais do mundo, e causa até 100 milhões de infecções anualmente. A dengue clássica é caracterizada por um início súbito de febre, dor de cabeça intensa, mialgia, artralgia e erupção cutânea. A infecção primária por dengue faz com que os anticorpos IgM aumentem para um nível detectável em 3 a 5 dias após o início da febre. Os anticorpos IgM geralmente persistem por 30 a 90 dias. A maioria dos pacientes com dengue em regiões endêmicas tem infecções secundárias, resultando em altos níveis de anticorpos IgG específicos antes ou simultaneamente à resposta IgM. 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 IgG/IgM é um teste que utiliza uma combinação de partículas coloridas revestidas com antígeno da dengue para a detecção de anticorpos IgG e IgM em sangue total humano, soro ou plasma.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste rápido de Dengue IgG/IgM é um imunoensaio 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, 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 dispositivo de teste. A mistura então migra para cima na membrana cromatograficamente por ação capilar e reage com o anti-IgG 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 IgG. No componente IgM, o anti-IgM humano é revestido na região da linha de teste de IgM. Durante o teste, a amostra reage com anti-IgM humano. Os anticorpos IgM, se presentes na amostra, reagem com o anti-IgM humano e as partículas revestidas com antígeno da dengue no dispositivo de teste, e esse complexo é capturado pelo anti-IgM humano, formando uma linha colorida na região da linha de teste de IgM. Portanto, se a amostra contiver anticorpos IgG, uma linha colorida aparecerá na região da linha de teste IgG. Se a amostra contiver anticorpos IgM, uma linha colorida aparecerá na região da linha de teste IgM. Se a amostra não contiver anticorpos da dengue, nenhuma linha colorida aparecerá em nenhuma das regiões da linha de teste, indicando um resultado negativo. Para servir como controle de procedimento, uma linha colorida sempre aparecerá na região da linha de controle, indicando que o volume adequado de amostra foi adicionado e que ocorreu a absorção da membrana.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES

Cassete: Contém partículas de ouro coloidal conjugadas com antígeno da dengue,

anti-IgM humano e anti-IgG humano revestidos na membrana.

Tampão: Na₂HPO₄ (5 g/L), NaCl (5 g/L), Casein-Na (3 g/L), Conservante (0,02%) e pH: 7,4.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Armazene na embalagem em temperatura ambiente ou refrigerada de 2 a 30 °C. O teste é estável até a data de validade impressa na embalagem lacrada. O teste deve permanecer na embalagem fechada até o momento do uso. Não congele. Não use após a data de validade.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 e 30 °C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

Por favor, leia todas as informações desta instrução de uso antes de realizar o teste.

1. Apenas para uso profissional em diagnóstico *in vitro*. Não use após a data de validade.
2. O teste deve permanecer na embalagem fechada até estar pronto para uso.
3. Não coma, beba ou fume na área onde as amostras e os kits serão manuseados.
4. Não use o teste se a embalagem estiver danificada.
5. Manuseie todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Observe as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos durante toda a realização do teste e siga o procedimento padrão para descarte adequado de amostras.
6. Use equipamentos de proteção individual como avental de laboratório, luvas descartáveis ou óculos de proteção quando as amostras estiverem sendo testadas.
7. Umidade e temperatura podem afetar negativamente os resultados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Tubo para coleta de amostras.

Micropipeta.

Centrífuga (somente para plasma).

Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Sangue Total, Soro e Plasma.

COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Coleta de Amostras

O teste rápido de Dengue IgG/IgM pode ser realizado com sangue total, soro ou plasma.

Soro ou plasma:

- Separe o soro ou o plasma do sangue o mais rápido possível para evitar hemólise. Use apenas amostras transparentes não hemolisadas.

Armazenamento de Amostras

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 a longo prazo, as amostras devem ser mantidas abaixo de -20 °C. O sangue total coletado por punção venosa deve ser armazenado a 2-8 °C se o teste for realizado dentro de 2 dias após a coleta. Não congele amostras de sangue total.

Preparação de Amostras

Coloque as amostras em temperatura ambiente antes do teste. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem homogeneizadas antes do teste. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente. Se as amostras forem enviadas, elas devem ser embaladas de acordo com os regulamentos locais referentes ao transporte de agentes etiológicos. K2EDTA, heparina de sódio, citrato de sódio e oxalato de potássio podem ser usados como tubo anticoagulante para coletar a amostra de sangue.

PROCEDIMENTO DO TESTE

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

1. Remova o cassete da embalagem de alumínio e use-o dentro de uma hora.

2. Coloque o cassete em uma superfície limpa e nivelada.

Para amostras de soro ou plasma:

- Usando conta-gotas: Segure o conta-gotas na posição vertical, aspire a amostra até a linha de preenchimento e transfira a amostra (aproximadamente 5 µL) para o poço de amostra (S) do cassete. Em seguida, adicione 3 gotas de tampão (aproximadamente 120 µL) no poço de tampão (B) e inicie o cronômetro. Evite a formação de bolhas no poço da amostra.

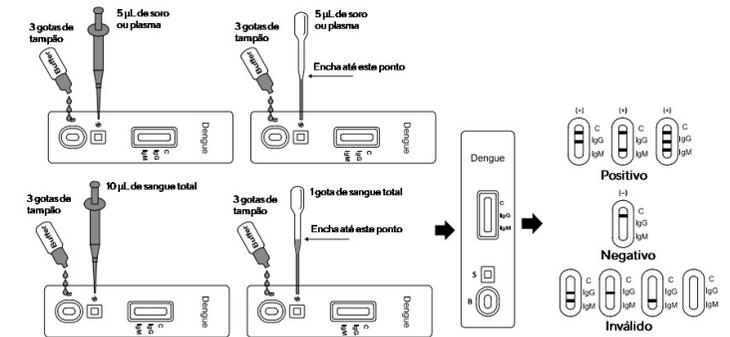
- Usando micropipeta: Pipete e dispense 5 µL de amostra no poço de amostra (S) do cassete. Em seguida, adicione 3 gotas de tampão (aproximadamente 120 µL) no poço de tampão (B) e inicie o cronômetro.

Para amostras de sangue total (punção venosa):

- Usando conta-gotas: Segure o conta-gotas na posição vertical, aspire a amostra 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. Em seguida, adicione 3 gotas de tampão (aproximadamente 120 µL) no poço de tampão (B) e inicie o cronômetro.
- Usando micropipeta: Pipete e dispense 10 µL de sangue total no poço de amostra do cassete. Em seguida, adicione 3 gotas de tampão (aproximadamente 120 µL) no poço de tampão (B) e inicie o cronômetro.

3. Aguarde até que a(s) linha(s) colorida(s) apareça(m). O resultado do teste deve ser lido em 10 minutos. Não interprete o resultado após 20 minutos.

Nota: Recomenda-se não usar o tampão 12 meses após a abertura do frasco.



INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Consulte a imagem acima.

IgG e IgM POSITIVO: Três linhas coloridas aparecem. 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. A intensidade de cor das linhas não precisa ser igual. O resultado é positivo para anticorpos IgG e IgM indicando estágio final de infecção primária por dengue e estágio inicial de infecção secundária por dengue.

IgG POSITIVO: Duas linhas aparecem. Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C), e outra linha colorida aparece na região da linha de teste IgG. O resultado é positivo para anticorpos IgG específicos do vírus da dengue e é provavelmente indicativo de infecção secundária por dengue.

IgM POSITIVO: Duas linhas aparecem. Uma linha colorida deve estar na região da linha de controle (C), e outra linha colorida aparece na região da linha de teste IgM. O resultado é positivo para anticorpos IgM específicos do vírus da dengue e é indicativo de infecção primária por dengue.

Nota: A intensidade da cor na região da linha de teste IgG e/ou IgM irá variar dependendo da concentração de anticorpos da dengue presentes na amostra. Portanto, qualquer tonalidade de cor nessas regiões deve ser considerada positiva.

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

INVÁLIDO: A linha de controle não aparece. Volume de tampão insuficiente ou técnicas incorretas de procedimento são as razões mais prováveis para a falha da linha de controle. Revise o procedimento e repita o teste com um novo cassete. Se o problema persistir, interrompa o uso do kit imediatamente e entre em contato com o seu distribuidor local.

CONTROLE DE QUALIDADE

Um controle de procedimento está incluído no teste. Uma linha colorida que aparece na região da linha de controle (C) é considerada um controle de procedimento interno. Ele confirma o volume de amostra e tampão suficiente, absorção de membrana adequada e técnica correta de procedimento. Os padrões de controle não são fornecidos com este kit; no entanto, recomenda-se que controles positivos e negativos sejam testados como boas práticas de laboratório para confirmar o procedimento do teste e verificar o seu desempenho adequado.

LIMITAÇÕES DA TÉCNICA

- O teste rápido de Dengue IgG/IgM é apenas para uso diagnóstico in vitro. O teste deve ser usado apenas para a detecção de anticorpos da dengue em amostras de sangue total, soro ou plasma. O valor quantitativo e a taxa de aumento na concentração de anticorpos da dengue não podem ser determinados por este teste qualitativo.
- O teste rápido de Dengue IgG/IgM indicará apenas a presença de anticorpos da dengue na amostra e não deve ser utilizado como único critério para o diagnóstico de dengue.
- No início precoce da febre, as concentrações de IgM anti-dengue podem estar abaixo dos níveis detectáveis. Para infecção primária, um ensaio imunoenzimático de captura de anticorpos IgM (MAC-ELISA) mostrou que 80% dos pacientes com dengue exibiram níveis detectáveis de anticorpos IgM no quinto dia após a infecção, e 99% dos pacientes testaram IgM positivo até o dia 10. Recomenda-se que os pacientes sejam testados dentro desse 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 IgM pode ser fraco e a reação cruzada na região da linha IgG pode aparecer.
- A reatividade sorológica cruzada em todo o grupo de flavivírus (Dengue 1, 2, 3 e 4, encefalite de St. Louis, vírus do Nilo Ocidental, encefalite japonesa e vírus da febre amarela) é comum. Os resultados positivos devem ser confirmados por outros métodos.
- A presença ou ausência contínua de anticorpos não pode ser usada para determinar o sucesso ou fracasso da terapia.
- Os resultados de pacientes imunossuprimidos devem ser interpretados com cautela.
- Tal como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
- Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, são recomendados testes adicionais usando outros métodos clínicos. Um resultado negativo não exclui em nenhum momento a possibilidade de infecção por dengue.
- O hematócrito do sangue total deve estar entre 25% e 65%.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As seguintes substâncias potencialmente interferentes foram adicionadas às amostras negativas e positivas para dengue: Acetaminofeno a 20 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico a 20 mg/dL, Ácido Ascórbico a 2 g/dL, Creatina a 200 mg/dL, Bilirrubina a 1g/dL, Cafeína a 20 mg/dL, Ácido Genticílico a 20 mg/dL, Albumina a 2 g/dL, Hemoglobina a 1000 mg/dL e Ácido Oxálico a 60 mg/dL. Nenhuma das substâncias nas concentrações testadas interferiu no ensaio.

REATIVIDADE CRUZADA

O teste rápido de Dengue IgG/IgM foi testado com amostras positivas para HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, sífilis, HIV, HCV, H. Pylori, MONO, CMV, Rubéola e TOXO. Os resultados não mostraram nenhuma reatividade cruzada.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade, Especificidade e Precisão

O teste rápido de Dengue IgG/IgM foi avaliado com amostras obtidas de uma população de indivíduos sintomáticos e assintomáticos. Os resultados foram confirmados por um teste comercial de Dengue ELISA. Os resultados mostraram que

a sensibilidade relativa geral para a infecção primária e secundária do teste rápido de Dengue IgG/IgM foi de 94,3%, a especificidade relativa foi de 99,1% e a precisão relativa foi de 98,3%.

Resultados de teste de IgM/IgG para infecção primária por dengue

Método		ELISA		
Teste Rápido de Dengue IgG/IgM	Resultados	Positivo		Negativo
		IgM	IgG	
	Positivo	IgM	20	0
	IgG	4	0	0
	Negativo	0	0	0
Sensibilidade Relativa		83,3%	/	/

Resultados de teste de IgM/IgG para infecção secundária por dengue

Método		ELISA		
Teste Rápido de Dengue IgG/IgM	Resultados	Positivo		Negativo
		IgM	IgG	
	Positivo	IgM	46	1
	IgG	18	63	0
	Negativo	0	0	0
Sensibilidade Relativa		71,9%	98,4%	/

Resultados de teste de IgM/IgG para infecção não-dengue

Método		ELISA		
Teste Rápido de Dengue IgG/IgM	Resultados	Positivo		Negativo
		IgM	IgG	
	Positivo	IgM	0	0
	IgG	0	0	3
	Negativo	0	0	429
Especificidade Relativa		/	/	99,1%

Sensibilidade relativa: $(20+63)/(24+64) = 94,3\%$ (95%IC*: 87,2%-98,1%).

Especificidade relativa: $429/433 = 99,1\%$ (95%IC*: 97,7%-99,7%);

Precisão: $(20+63+429)/(24+64+433) = 98,3\%$ (95%IC*: 96,7%-99,2%).

*Intervalo de confiança

Precisão

Intra-ensaio

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

Inter-ensaio

A precisão entre as corridas foi determinada por 15 ensaios independentes nas mesmas quatro amostras: uma negativa, uma IgG positiva, uma IgM positiva e uma IgG/IgM positiva. Três lotes diferentes do teste rápido de Dengue IgG/IgM foram testados usando essas amostras. As amostras foram corretamente identificadas >99% das vezes.

APRESENTAÇÃO DO KIT

COMPONENTE	QUANTIDADE
Cassete	25 UND
Conta-Gotas	25 UND
Tampão	1 UND
Instrução de Uso	1 UND

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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

6. 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.

7. 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

8. Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus infections. Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

FABRICADO POR: Hangzhou AllTest Biotech Co., Ltd.

#550, Yin Hai Street, Hangzhou Economic and Technological Development Area, Hangzhou, Zhejiang - 310018 - China

IMPORTADO E DISTRIBUÍDO POR: Biosul Produtos Diagnósticos Ltda.

CNPJ: 05.905.525/0001-90

Rua Mucuri, 255, Floresta, CEP 30150-190, Belo Horizonte/MG - Brasil

Resp Téc.: Virgínia Lane Oliveira - CRF/MG: 28414

Reg. M.S.: 80474870106

Rev.: 001/22

Informações de contato (SAC):

Fone: +55-31-3589-5000

E-mail: sac@gtgroup.net.br

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (mm/aaaa)
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Risco Biológico
	Data de Fabricação (dd/mm/aaaa)
	Número de Lote