

INSTRUÇÕES DE USO

DENGUE IgM/IgG TESTE RÁPIDO 25 testes

USO PRETENDIDO

O teste DENGUE IgM/IgG TESTE RÁPIDO é indicado para a detecção qualitativa de anticorpos IgG e IgM do vírus da dengue no soro humano e sangue total. O teste pode ser usado para diferenciação entre infecção primária de secundária. Este teste deve ser usado somente com sinais e sintomas consistentes de infecção do vírus da dengue. Resultados positivos são presumíveis e devem ser confirmados pelo isolamento do vírus, análise do soro pareada, detecção de antígeno por imunohistoquímica ou detecção de ácido nucléico viral para a confirmação da dengue.

INTRODUÇÃO

Dengue, um flavovírus é encontrado em grandes áreas dos trópicos e subtrópicos. A transmissão é feita por mosquitos principalmente o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. A infecção da dengue causa um espectro de manifestações clínicas variando da assintomatologia à hemorragia fatal. A dengue clássica é caracterizada pelo aparecimento repentino de febre, dor de cabeça intensa, mialgia, artrose e vermelhidão. É comum um curso difásico febril, assim como insônia e anorexia com boca amarga e perda de paladar. A dengue hemorrágica e a síndrome do choque são complicações severas muitas vezes atribuídas a resposta da infecção.

Em regiões endêmicas, pacientes diagnosticados com febre da dengue geralmente tem a infecção secundária. Consequentemente, a detecção de anticorpos da dengue é um procedimento valioso, particularmente nessas infecções secundárias e subsequentes onde a ocorrência de complicações é alta. Tradicionalmente, títulos de hemaglutinação HAI vem sendo usados para a classificação de infecção primária ou secundária. A definição corrente depende de um ensaio com amostras de soros pareados distanciados em no mínimo 7 dias, apesar de que qualquer amostra com HAI título $\geq 1:2560$ é definida como proveniente de um paciente com infecção secundária por flavovírus.

No DENGUE IgM/IgG TESTE RÁPIDO, IgG e IgM são determinadas simultaneamente, usando-se a simples adição de soro ou sangue total. Portanto a diferenciação entre a infecção primária e secundária pode ser feita com uma simples aplicação de soro ou sangue total e não uma série de diluições como para um ensaio de HAI. Em infecções primárias, anticorpos IgM do soro podem ser detectados em pacientes com dengue de 3-5 dias após o início da febre e geralmente persistem por 30-90 dias, apesar de os níveis detectáveis poderem continuar presentes após 8 meses de infecção.

A infecção secundária é caracterizada por altos níveis de IgG que podem estar acompanhados de elevados níveis de IgM. A sensibilidade deste teste foi estabelecida de maneira que, em pacientes com dengue primária, IgM é positiva enquanto IgG é negativa. Em contraste, pacientes com infecções secundárias obtiverão um resultado de IgG positivo com ou sem um resultado positivo de IgM; pacientes com outras infecções por flavovírus (encefalite japonesa, febre amarela, vírus West Nile, encefalite de St Louis) demonstraram algum nível de reação cruzada com a sorologia da dengue.

PRINCÍPIO

Quando presente nas amostras imunoglobulinas específicas da dengue IgG ou IgM ligam-se aos anticorpos anti-IgM ou anti-IgG humanos imobilizados em duas linhas na membrana do cassete. Complexos de ouro coloidal contendo抗ígenos da dengue 1-4 são capturados por IgM ou IgG do paciente fornecendo uma linha rosa visível. Um controle de procedimento é incluído para indicar que o ensaio foi realizado corretamente.

PRECAUÇÕES

- 1- Todos os produtos de sangue humano devem ser manuseados como material potencialmente infeccioso. Os Centros de Controle de Doenças e Prevenção recomendam que sejam manuseados como nível de biossegurança.
- 2- Nunca pipetar com a boca ou permitir que os reagentes ou amostras do paciente entrem em contato com a pele.
- 3- Ótimos resultados podem ser obtidos seguindo-se exatamente o protocolo. Os reagentes devem ser adicionados cuidadosamente para manter a precisão e a acuracidade do teste.
- 4- A realização do teste fora do tempo e temperatura indicados pode fornecer resultados inválidos e devem ser repetidos.
- 5- Os componentes do kit devem ser testados pelo controle de qualidade com uma unidade de lote. Não misturar reagentes de diferentes lotes. Não misturar com reagentes de outros fabricantes.
- 6- Cuidado em proteger os componentes deste kit de contaminação. Não usar se houver evidência de contaminação microbiológica ou precipitação. Contaminação biológica no manuseio de equipamentos, recipientes ou reagentes pode levar a falsos resultados.
- 7- Não aquecer soros inativos.
- 8- Manter as caixas de armazenamento secas.
- 9- Não reutilizar cassetes de teste. Não usar se a embalagem de alumínio estiver danificada.
- 10- Os materiais testados devem ser descartados de acordo com regulamentações estaduais ou federais.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE DOS REAGENTES

- 1- Armazenar o kit entre 2-30° C. Temperatura de armazenamento constante deve ser mantida para garantir a estabilidade dos reagentes até o final do prazo de validade. Verificar o prazo de validade na etiqueta da embalagem.
- 2- Não congelar os reagentes.
- 3- O teste pode ser usado até o final da data da validade marcada na embalagem. Não utilizar reagentes vencidos.

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- 1- O sangue obtido por punctura venosa deve coagular à temperatura ambiente e depois ser centrifugado de acordo com o National Committee for Clinical Laboratories Standards NCCLS.
- 2- O soro deve ser separado o mais cedo possível e refrigerado de 2-8° C ou armazenado congelado a -20° C se não for testado em 2 dias. Freezer auto-descongelante não é recomendado para o armazenamento. Não usar soro lipêmico, hemolizado ou com crescimento microbiológico.
- 3- Não é recomendado o uso de freezers auto-descongelantes para o armazenamento pois, podem causar degradação dos anticorpos levando a resultados duvidosos.
- 4- O sangue da ponta dos dedos deve ser testado imediatamente após a coleta. O NCCLS recomenda que o soro total contendo EDTA ou heparina como anticoagulante pode ser usado imediatamente sem centrifugação ou pode ser armazenado a 2-8° C por até 72 horas.

Componentes do kit

Cada kit contém os seguintes componentes em quantidade suficiente para realizar o número de testes indicado na etiqueta da caixa.

- 25 bolsas, contendo cada uma um cassete teste e uma pipeta MicroSafe® de 10 µl.
- 1 Instruções de Uso
- 1 x 3 ml de tampão (contém 0,1% de Proclin)

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Timer: 0 a 60 segundos

PROCEDIMENTO GERAL

Operação com a pipeta MicroSafe

Esta pipeta pode ser usada com sangue total ou soro.

Favor seguir estritamente as instruções a seguir quando pipetar:

- 1- Segurar a pipeta horizontalmente
- 2- Tocar a amostra teste com a ponta da pipeta.
- 3- Para expelir a amostra, apertar gentilmente o bulbo.



Figura 1. Coleta da amostra com a pipeta

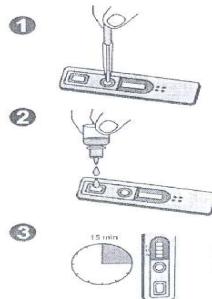
ATENÇÃO NÃO APERTAR O BULBO COMO PARA ENCHIMENTO AUTOMÁTICO

Procedimento do ensaio

Nota: Assegurar que todos os reagentes estejam à temperatura ambiente (20-25°C) antes de iniciar o teste.

Remover o cassete e a pipeta MicroSafe® da embalagem imediatamente antes do uso.

- Adicionar 10 µl de sangue total ou soro à cavidade circular utilizando uma micropipeta ou a pipeta MicroSafe® fornecida
- Permitir que a amostra seja inteiramente absorvida no pad de amostra presente na cavidade circular.
- Colocar o frasco de tampão verticalmente e a 1 cm acima da cavidade quadrada.
- Adicionar 2 gotas de tampão à cavidade quadrada presente na base do cassete.



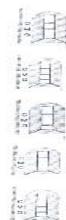
Ler os resultados 15 minutos após adicionar o tampão ao cassete. Qualquer traço de uma linha pink na área teste indica um resultado positivo.

Controle de Qualidade

- O teste é inválido e deve ser repetido se a linha controle não aparecer. Se o teste for inválido, os resultados dos pacientes não podem ser reportados.
- Amostras de sangue total podem causar um background (ruído de fundo) vermelho visível na janela do cassete. Se isso não mascarar a linha teste, os resultados permanecem válidos.
- O Controle de Qualidade (CQ) deve ser realizado em conformidade com as Normas local, estadual e/ou federal ou com os requerimentos de acreditação, e com os procedimentos padrão do próprio laboratório. Recomenda referir-se ao NCCLS C24-A e 42 CFR 493.1202(c) como guia de práticas apropriadas de CQ.

Valores esperados e limitações do teste

A dengue primária é caracterizada pela presença de anticorpos IgM detectáveis 3-5 dias após o início da doença. A dengue secundária é caracterizada pela elevação de anticorpos IgG específicos 1-2 dias após o início da doença e, na maioria dos casos, acompanhada pela elevação de IgM.



Interpretação dos resultados

C: Linha controle M: linha teste IgM G: linha teste IgG

Aparecimento de linhas de cor pink nas regiões IgM e controle.

Positivo – Infecção primária

O teste é positivo para anticorpos IgM e é indicativo de uma infecção primária por dengue (Ver limitações).

Para confirmação da infecção pelo vírus da dengue, recomenda-se o isolamento do vírus, a análise de soros pareados, a detecção de antígenos por imunohistoquímica ou a detecção de ácido nucleico viral.

Aparecimento de linhas de cor pink nas regiões IgM, IgG e controle.

Positivo – Infecção secundária

O teste é positivo para anticorpos IgM e IgG é indicativo de uma infecção secundária por dengue (Ver limitações).

Para confirmação da infecção pelo vírus da dengue, recomenda-se o isolamento do vírus, a análise de soros pareados, a detecção de antígenos por imunohistoquímica ou a detecção de ácido nucleico viral.

Aparecimento de linhas de cor pink nas regiões IgG e controle.

Positivo – Infecção secundária

O teste é positivo para anticorpos IgG e é indicativo de uma infecção secundária por dengue (Ver limitações).

Para confirmação da infecção pelo vírus da dengue, recomenda-se o isolamento do vírus, a análise de soros pareados, a detecção de antígenos por imunohistoquímica ou a detecção de ácido nucleico viral.

Aparecimento de linhas de cor pink somente na região controle.

Negativo

Nenhum anticorpo IgG ou IgM para dengue detectável. O resultado não exclui uma infecção por dengue.

Se houver suspeita de infecção por dengue retestar após 3-4 dias.

Nenhum aparecimento de linhas de cor pink na região controle.

Inválido

O teste é inválido e deve ser repetido.

GUIA DE RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

| PROBLEMA | POSSIVEL CAUSA | SOLUÇÃO |
|------------------------------------|--|---|
| Amostra não flui na janela visor | Tampão insuficiente | Certificar-se que o frasco está na posição vertical quando adicionar as gotas e não em contato com a cavidade quadrada. Quando dispensar, segurar o frasco 1 cm acima. |
| Sangue obscurecendo a janela teste | Sangue não absorvido pela almofada de amostra na cavidade circular | Certificar-se que a amostra foi totalmente absorvida pelo material antes da adição do tampão. Isso pode demorar até 30 seg para amostras de sangue. |
| Nenhuma linha controle | Tampão insuficiente | Repetir o teste |
| Pipeta não funciona | Apertar o bulbo quando encher. Ângulo da pipeta quando encher. | Não apertar o bulbo quando enchê-lo. Somente apertar o bulbo para expelir amostra. Segurar a pipeta horizontalmente quando encher. |

LIMITAÇÕES

- A análise de somente uma amostra teste não deve ser usada como um único critério de diagnóstico.
- Em infecções recentes e algumas infecções secundárias, níveis detectáveis de IgM podem ser baixos. Alguns pacientes podem não produzir níveis detectáveis de anticorpos dentro dos primeiros sete a dez dias após a infecção. Quando os sintomas persistirem pacientes devem ser retestados 3-4 dias após a primeira amostra.
- Reação cruzada entre os grupos de flavivírus é comum (dengue 1,2,3,4 encefalite de St Louis, West Nile, encefalite Japonesa e febre amarela)
- O diagnóstico final deve ser baseado em resultados de teste em conjunto com outros parâmetros laboratoriais e clínicos.
- Triagem da população em geral não deve ser realizada. O valor preditivo positivo depende da probabilidade do vírus estar presente. O teste deve ser realizado somente em pacientes com sintomas clínicos ou quando expostos a suspeitos.
- A presença ou ausência contínua de anticorpos não pode ser usada para determinar o sucesso ou falha da terapia.
- Resultados de pacientes imunossuprimidos devem se interpretados com cuidado.

Bibliografia

- Lam, S. K. (1995). Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 6:39-48.
- Technical advisory group on Dengue haemorrhagic fever/Dengue shock syndrome. (1986). Dengue fever diagnosis, treatment, and control. Geneva, Switzerland: World Health Organisation.
- Ruechusatsawat, K., Morita, K., Tanaka, M., Vongcheree, S., Rojanasuphot, P., Warachit, P., Kanai, P., Thongtradol, P., Nimmakorn, P., Kanungkud, S. and Igarashi, A. (1994). Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 22:9-12.

Data de vencimento, No. de Lote, No. de Registro do Ministério da Saúde e Responsável Técnico:
VIDE EMBALAGEM

Produzido por: PANBIO Limited 532 Seventeen Mile Rocks Road, Brisbane - Austrália.

Importado e distribuído por: Medivax Indústria e Comércio Ltda
Av Venezuela 3, sala 303 Rio de Janeiro/RJ - CNPJ: 68.814.961-0001-73