

Dengue IgG/IgM/Ag | Eco Teste - TR.0062



O Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste é um teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral com painel duplo, para a detecção simultânea e diferenciação de anticorpos IgG e IgM anti-dengue e antígeno da dengue (dengue Ag), em amostras humanas de soro ou plasma. O teste pode ser aplicado tanto na triagem quanto como auxiliar no diagnóstico de infecção pelo vírus da dengue.

Sumário e Explicação do Teste:

O vírus da Dengue, uma família de quatro sorotipos distintos de vírus (Den 1,2,3 e 4), são filamentos únicos, envelopados e de RNA sentido positivo. Os vírus são transmitidos pelo mosquito diurno da família Culicidae, principalmente o *Aedes aegypti*, e *Aedes albopictus*. Hoje, mais de 2,5 bilhões de pessoas vivem em áreas tropicais da Ásia, África, Austrália e das Américas, áreas de risco para a infecção pela dengue. Uma estimativa de 100 milhões de casos de dengue e 250.000 casos de dengue hemorrágica ocorrem anualmente em uma base mundial 1-3.

A detecção sorológica é um método comum para o diagnóstico de infecção pelo vírus da dengue. IgM anti-dengue começa a aparecer 3 dias após a exposição e permanece na circulação por volta de 30-60 dias. Os níveis de IgG anti-dengue aumentam por volta de 7 dias, atingem picos em 2-3 semanas, e persistem por toda a vida 4-6. A detecção de antígenos durante a replicação viral em pacientes infectados apresenta resultados promissores. Isso permite o diagnóstico a partir do primeiro dia do começo da febre até o 9º dia de infecção, uma vez que a fase clínica de doença é longa, o teste permite a detecção precoce e o tratamento imediato 7.

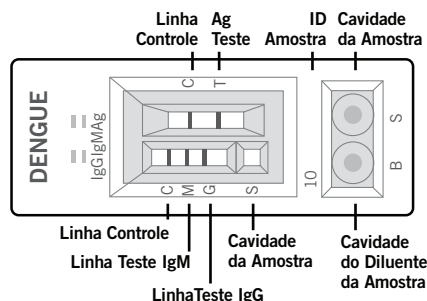
O teste rápido Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste detecta IgG e IgM anti-dengue e antígeno circulante da dengue em até 25 minutos. O teste é de uso fácil, não requer equipamentos de laboratórios e treinamento mínimo.

Princípio do Teste

O Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste contém dois dispositivos testes: do lado esquerdo do painel está o teste para IgG e IgM anti-dengue e do lado direito, o teste para antígeno da dengue.

O teste rápido para detecção de IgG e IgM anti-dengue, situado do lado esquerdo do painel, é um teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral. A tira de teste contida no cassete consiste em: 1) uma almofada de conjugado, de coloração vermelha, contendo antígeno envelopado conjugado com ouro coloidal (dengue Ag conjugado), e IgG de coelho conjugada com ouro; 2) membrana de nitrocelulose contendo duas linhas (linha G e M) e uma linha C controle (linha C). A linha G é pré-revestida com anticorpo para a detecção de IgG anti-dengue, a linha M é revestida com anticorpo para detecção de IgM anti-dengue e a linha C é pré-revestida com anticorpo de cabra anti-IgG de coelho.

O teste rápido para a detecção de dengue Ag, situado do lado direito do painel, também é um teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral. A tira de teste contida no cassete consiste em: 1) uma almofada de conjugado, de coloração vermelha, contendo anticorpo de camundongo anti-antígeno da dengue conjugado com ouro coloidal (dengue Ac conjugado), e IgG de coelho conjugada com ouro; 2) membrana de nitrocelulose, contendo uma linha de teste (linha T) e uma linha controle (linha C). A linha T é pré-revestida com anticorpo de camundongo anti-antígeno da dengue, e a linha C é pré-revestida com anticorpo de cabra anti-IgG de coelho. Os anticorpos para dengue reconhecem os antígenos de todos os quatro sorotipos do vírus da dengue.



Quando um volume suficiente da amostra teste é dispensado dentro da cavidade da amostra no cassete, a amostra migra por capilaridade. Anticorpo IgG anti-dengue, se presente na amostra, se ligará ao dengue Ag conjugado. O imunocomplexo é então capturado na membrana pelo anti-IgG humano, formando uma linha de coloração vermelha na região G, indicando teste reagente para IgG anti-dengue. O resultado reagente na linha G sugere uma infecção secundária ou infecções anteriores.

Anticorpo IgM anti-dengue, se presente na amostra, se ligará ao dengue Ag conjugado. O imunocomplexo é então capturado pelo anti-IgM humano, formando uma linha de coloração vermelha na região M, indicando IgM anti-dengue reagente, sugerindo uma infecção primária recente.

O antígeno da dengue, se presente na amostra, será reconhecido pelo dengue Ac conjugado. O imunocomplexo é então capturado na membrana pelo anticorpo de camundongo anti-antígeno da dengue, formando uma coloração vermelha na linha T, indicando um resultado reagente para o antígeno da dengue.

A ausência de coloração nas linhas das regiões G, M ou T sugerem resultado não reagente.

O teste contém um controle interno (linha C), que deverá exibir coloração vermelha, formada pelo imunocomplexo de anticorpo de cabra anti-IgG de coelho/IgG de coelho conjugada a ouro, nos lados direito e esquerdo do painel, independente da presença de coloração nas linhas dos testes. Caso contrário, o resultado do teste é considerado inválido e deverá ser repetido utilizando outro dispositivo.

Reagentes e Materiais Necessários

1. Cada dispositivo é selado individualmente, e contém dois itens dentro:
 - a) Cassete composto por dispositivo plástico e tira teste.
 - b) Um sachê dessecante, sílica gel: 1g.
2. Tubo capilar de 5 µL (para o teste dengue IgG/IgM).
3. Pipeta plástica descartável (para o teste de Ag da dengue).
4. Frasco descartável de 5 mL com tampão diluente.
5. Manual de instruções.

Materiais que poderão ser requeridos e não são fornecidos

1. Controle Reagente.
2. Controle Não Reagente.
3. Cronômetro.

Atenções e Precauções

Uso para Diagnóstico in vitro

1. Essa bula deverá ser lida antes de executar o teste. Para um resultado mais preciso, siga corretamente as instruções de uso.
2. Não abra a embalagem, antes de o teste estar pronto para ser executado.

3. Não use dispositivos vencidos.
4. Não reutilize o teste.
5. Todos os reagentes devem estar na temperatura ambiente antes de iniciar os procedimentos.
6. Os componentes deste kit foram testados com controle de qualidade da unidade de lote padrão. Não misturar componentes de diferentes números de lote.
7. Não usar sangue hemolisado como amostra teste.
8. Vista roupas de proteção e luvas enquanto manuseia os reagentes do kit e amostras. Lave as mãos após realizar o teste.
9. Não fumar, beber ou comer em áreas onde as amostras ou reagentes do kit estejam sendo manuseadas.
10. Tratar e descartar todas as amostras e materiais utilizados na realização do teste como resíduos potencialmente infectantes.
11. Manusear o Controle não reagente e reagente da mesma forma que as amostras dos pacientes;
12. Os resultados dos testes deverão ser lidos em até 25 minutos após a aplicação da amostra no dispositivo. Ler o resultado após 25 minutos pode causar resultados errôneos.
13. Não realizar o teste em lugares com corrente de ar forte, com ventilador ou ar-condicionado forte.

Preparo de Reagentes e Instruções de Armazenamento

Todos os reagentes estão prontos para serem usados como fornecidos. Armazenar os dispositivos testes na temperatura de 2°C a 30°C. Os controles reagentes e não reagentes deverão ser mantidos na temperatura de 2°C a 8°C. Se armazenados de 2°C a 8°C, assegurar que o dispositivo teste seja levado para a temperatura ambiente antes de ser usado. O dispositivo teste é estável até a data de vencimento rotulada na embalagem. Não congelar. Não armazenar o kit a temperaturas superiores a 30°C.

Coleta e Manuseio das Amostras

Considerando qualquer material de origem humana como infeccioso, procedimentos de biossegurança deverão ser seguidos no manuseio das amostras.

Plasma:

1. Coletar amostra de sangue em um tubo coletor contendo EDTA, citrato ou heparina, por punção venosa.
2. Separar o plasma por centrifugação;
3. Cuidadosamente, retirar o plasma de dentro do tubo coletor e colocá-lo em um novo tubo.

Soro:

1. Coletar amostra de sangue em um tubo coletor sem anticoagulantes, por punção venosa.
2. Permitir coagulação do sangue.
3. Cuidadosamente, retirar o soro de dentro do tubo coletor e colocá-lo em um novo tubo.

Testar as amostras assim que possível após a coleta. Se não realizar o teste imediatamente, armazenar as amostras entre 2°C a 8°C por até 5 dias. As amostras deverão ser congeladas a -20°C para armazenamento por longo período.

Evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento. Antes de realizar o teste, as amostras congeladas deverão ser levadas para a temperatura ambiente e homogeneizadas. Amostras contendo partículas visíveis deverão ser clarificadas por centrifugação antes do teste.

Não usar amostras com aparência lipêmica, hemolisadas ou turvas, para evitar interferência na interpretação do resultado.

Procedimento

1º Passo: Levantar a amostra e os componentes do teste para a temperatura ambiente, se refrigerados ou congelados. Uma vez que amostra estiver descongelada, homogeneizar bem antes de realizar o teste.

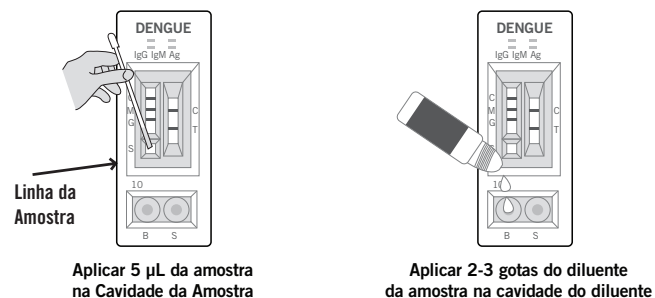
2º Passo: Abrir a embalagem e remover o dispositivo. Coloque o dispositivo teste em uma superfície limpa e plana.

3º Passo: Rotular o dispositivo teste com o número de identificação da amostra.

4º Passo: Encher a pipeta plástica descartável com a amostra.

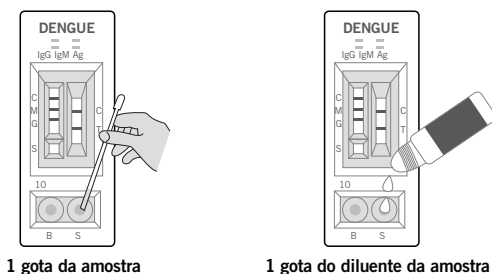
Para a detecção de IgG/IgM anti-dengue

Encher o tubo capilar com a amostra. Não exceder a linha da amostra, como representado na imagem. Segurar o tubo capilar verticalmente e dispensar toda a amostra no centro da cavidade da amostra, certificando que não existem bolhas de ar. Em seguida, adicione imediatamente 2-3 gotas (cerca de 60-100 µL) de tampão diluente dentro da cavidade do diluente.



Para a detecção de antígeno da dengue

Segurar a pipeta verticalmente e dispensar 1 gota (aproximadamente 30-45 µL) de amostra dentro da cavidade da amostra, certificando que não existem bolhas de ar. Em seguida, adicionar imediatamente 1 gota (aproximadamente 35-50 µL) do tampão diluente.



5º Passo: Cronometrar o tempo.

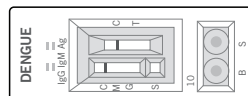
6º Passo: Ler o resultado do teste em 25 minutos. Resultado reagente pode estar visível em um tempo curto de 1 minuto.

Não ler o resultado depois de 25 minutos. Para evitar confusões, descartar o dispositivo teste logo após a interpretação dos resultados.

Interpretação do Resultado

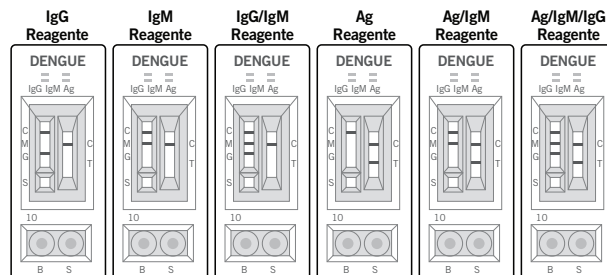
Resultado Não Reagente:

Se somente a linha C aparecer, a ausência de coloração nas linhas G, M e T indicam que nenhum anticorpo anti-dengue e antígeno da dengue foi detectado. O resultado é não reagente.



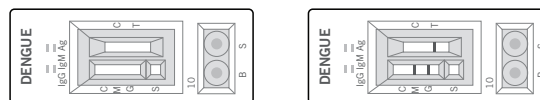
Resultado Reagente:

Se as linhas C, G, M e T aparecerem, o teste indica a presença de anticorpos e antígenos para dengue na amostra. O resultado é reagente. A presença da linha T, M ou G, mesmo que fraca indica um resultado reagente



Invlálido:

Se a linha C não aparecer, o teste é inválido mesmo com o aparecimento das linhas G, M ou T. A linha Controle deverá sempre aparecer se o procedimento for realizado adequadamente e os reagentes do teste forem funcionais. Repetir o teste com um novo dispositivo.



Controle de Qualidade

Controle Interno: Esse teste contém um controle interno embutido, a linha C. A linha C é evidenciada após a adição da amostra e do tampão diluente. Se a linha C não aparecer, reveja todo o procedimento e repita o teste com um novo dispositivo.

Controle Externo: Boas Práticas de Laboratório recomendam o uso de controles externos, reagentes e não reagentes para assegurar o desempenho do teste, particularmente sobre as circunstâncias abaixo:

- Um novo operador usa o teste, antes de testar as amostras;
- Um novo lote do kit teste é usado;
- Uma nova remessa de kits é usada;
- A temperatura usada no armazenamento dos testes sai da faixa de 2°C a 30°C;
- A temperatura da área de realização do teste sai da faixa de 15°C a 30°C;
- Para verificar uma maior frequência do que o esperado de resultados reagentes ou não reagentes;
- Para investigar a causa de resultados inválidos com frequência.

Desempenho Clínico

Foram usadas 166 amostras biológicas fornecidas por laboratórios clínicos de referência. Os resultados foram comparados com os resultados de um kit Dengue IgG/IgM/Ag imunocromatográfico disponível no mercado (método referência), com as mesmas amostras. As amostras foram consideradas positivas se o resultado do kit referência fosse positivo. Amostras foram consideradas negativas se o resultado do kit referência fosse negativo. A comparação entre os resultados seguem abaixo:

Kits Referência	Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste		
	Reagente	Não Reagente	Total
Reagente	66	0	66
Não Reagente	0	100	100
Total	66	100	166
Sensibilidade Relativa: 100,0%		Especificidade Relativa: 100,0%	

Limitações do Teste

- Não seguir o correto procedimento do teste pode levar a resultados não precisos.
- O teste rápido Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste é limitado qualitativamente na detecção de anticorpos e antígenos em soro e plasma. A intensidade da linha teste não possui correlação linear com o título de anticorpos e antígenos nas amostras.
- Nenhuma informação de sorotipos de dengue pode ser fornecida com este teste.
- O teste rápido Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste não pode ser usado para diferenciar, se a infecção é primária ou secundária. Nenhuma informação de sorotipos da dengue pode ser fornecida com esse teste.
- Reatividade sorológica cruzada com outros flavivírus é comum (por exemplo, encefalite Japonesa, Oeste Nilo, febre amarela etc.). Portanto, é possível que pacientes infectados com esses vírus possam apresentar algum grau de reatividade com esse teste.
- Um resultado não reagente indica ausência de anticorpos ou antígenos detectáveis do vírus da dengue. Entretanto, um teste com resultado não reagente não previne a possibilidade de exposição ou infecção pelo vírus da dengue.
- Um resultado não reagente pode ocorrer se a quantidade de anticorpos ou antígenos do vírus da dengue, presentes na amostra, estiver abaixo do limite de detecção do teste, ou os anticorpos e antígenos que são detectados não estiverem presentes durante o estágio da doença em cada uma das amostras coletadas.
- Se os sintomas persistirem, por mais que o resultado seja não reagente do teste rápido Dengue IgG/IgM/Ag Eco Teste, recomenda-se realizar um novo teste após poucas semanas ou usar um método alternativo.
- Algumas amostras contendo altos títulos de anticorpos heterótipos ou fator reumatoide podem ter seus resultados alterados.
- Os resultados obtidos com o teste devem ser interpretados em conjunto com outros procedimentos e descobertas clínicas.

Referências

- Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. *Emerg Infect Dis* 1995;1(2):55-57.
- Gubler DJ, Trent DW. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infect Agents Dis* 1994;2:383-393.
- Monath TP. Dengue: The risk to developed and developing countries. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:2395-2400.
- Price DD, Wilson SR. Dengue Fever, e-medicine, <http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm>, Jan, 2002.

Fabricante: Eco Diagnóstica LTDA – ME.

Avenida Amarante Ribeiro de Castro, 551, Oliveira – Corinto – MG; CEP: 39.200.000 – CNPJ 14.633.154/0002-06. Autorização do MS nº 8.09548-8 - Farmacêutica Resp. Técnica: Roberta de Castro e Costa CRF-MG: 31.236. Tel.: +55 31 36532025. contato@ecodiagnostica.com.br – www.ecodiagnostica.com.br

Reg. MS. 80954880010 | Edição: 11/2015