

## Dengue IgG/IgM ECO Teste - TR.0061C



Dengue IgG/IgM ECO Teste é um teste rápido imunocromatográfico para a detecção e diferenciação simultânea dos anticorpos IgG e IgM anti-dengue (DEN 1,2,3 e 4), em amostras humanas de soro, plasma ou sangue total. É destinado para triagem no auxílio do diagnóstico de infecções pelo vírus da Dengue.

### Sumário e Explicação do Teste

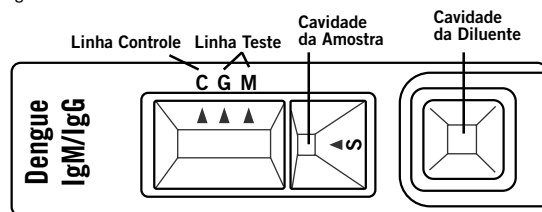
O vírus da Dengue, uma família de quatro sorotipos distintos de vírus (Den 1,2,3 e 4), são filamentos únicos, envelopados e de RNA no sentido positivo. Os vírus são transmitidos pelo mosquito diurno da família *Culicidae*, principalmente o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Hoje, mais de 2,5 bilhões 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.

A detecção sorológica é um método comum para o diagnóstico de infecção pelo vírus da dengue. O 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 vida.

O teste rápido Dengue IgG/IgM ECO Teste utiliza proteínas recombinantes que reconhecem anticorpos IgG e IgM contra quatro sorotipos do vírus da dengue. O teste é de fácil uso, não necessita de equipamentos laboratoriais e requer treinamento mínimo.

### Princípio do Teste

Dengue IgG/IgM ECO Teste é um teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral, que detecta anticorpos contra os quatro sorotipos do vírus da dengue. A tira de teste contida no dispositivo teste consiste em: 1) uma almofada conjugada, de coloração vermelha, contendo antígeno envelopado recombinante conjugados com ouro coloidal (dengue conjugado) e IgG de coelho-ouro conjugado; 2) membrana de nitrocelulose, contendo anti-IgG humano, uma linha (linha M) e uma linha C controle (linha C). A linha M é revestida com anti-IgM humano e a linha C é pré-revestida com anticorpo de cabra anti-IgG de coelho.



Quando um volume suficiente da amostra é dispensado dentro da cavidade da amostra no dispositivo teste, a amostra migra por ação capilar. Anticorpo IgG anti-dengue, se presente na amostra, se ligará ao dengue 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-vírus da dengue. O resultado reagente na linha G sugere uma infecção secundária ou infecções anteriores.

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

Se a linha G e M são visíveis, o resultado do teste sugere infecção primária recente e infecção secundária ou infecção primária tardia.

Ausência de ambas as linhas do teste (G e M) sugerem resultado não reagente.

O teste contém um controle interno (linha C), que deverá exibir linha de coloração vermelha formada pelo imunocomplexo do anticorpo de cabra anti-IgG de coelho/IgG de coelho-ouro conjugado, independente da presença de coloração nas linhas G e M. Caso contrário, o resultado do teste é invalidado e a amostra deverá ser repetida com outro dispositivo.

### Reagentes e Materiais Necessários

1. Cada dispositivo é selado individualmente e contém:

- 1 dispositivo teste.
  - 1 sachê dessecante com sílica gel.
- 1 Pipeta capilar de 10µL.
  - 1 Tampão diluente.
  - 1 Instrução de uso.

### Materiais que poderão ser requeridos e não são fornecidos

- 1 Cronômetro.
- 1 Recipiente para coleta de amostra.
- 1 Centrífuga.

### Atenções e Precauções

#### Uso para Diagnóstico *in vitro*

1. A instrução de uso deverá ser lida antes da execução do teste.
2. Não use os componentes do kit após a data de validade indicada na embalagem.
3. Não use o teste se a embalagem de alumínio estiver danificada.
4. Não reutilize os testes.
5. Todos os reagentes devem estar em temperatura ambiente antes de iniciar os procedimentos.
6. Evite contaminação cruzada de amostras utilizando um novo coletor de amostra para cada amostra obtida.
7. Não fume, beba ou coma em áreas onde as amostras ou reagentes do kit estejam sendo manuseadas.
8. Manuseie todas as amostras como se elas contivessem agentes infecciosos.
9. Observe as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos ao longo do procedimento e siga os procedimentos padronizados para o descarte apropriado das amostras. Vista roupas de proteção como jalecos laboratoriais, luvas descartáveis e óculos de proteção quando estiver analisando as amostras.
10. Umidade e temperatura podem afetar os resultados de maneira adversa.
11. **ATENÇÃO:** Todas as amostras humanas devem ser consideradas potencialmente infectantes. Recomenda-se que os reagentes e as amostras dos pacientes sejam tratadas de acordo com as normas ou outras diretrizes de segurança de risco biológico ou regulamentos locais apropriados.

### Instrução de Armazenamento e Estabilidade

Armazenar os dispositivos testes em temperatura entre 2 e 30°C até a data de validade indicada na embalagem de alumínio selada. O teste deve permanecer na embalagem selada até o momento do uso. Não congelar. Não armazenar o kit em temperatura superior a 30°C. Deve-se tomar cuidado para proteger os componentes do kit de contaminação. Não usar o kit se tiver evidência de contaminação microbiológica ou precipitação. Contaminação biológica de pipetas, coletores ou reagentes podem levar a falsos resultados.

### Coleta e Manuseio das Amostras

Considere todos os materiais de origem humana como infecciosos. Procedimentos de biossegurança deverão ser seguidos no manuseio das amostras.

#### Plasma:

- Coletar amostra de sangue em um tubo coletor de tampa azul ou verde a vácuo (contendo EDTA, citrato ou heparina, respectivamente) por punção venosa.
- Separar o plasma por centrifugação.
- Cuidadosamente retirar o plasma de dentro do tubo coletor e colocá-lo em um novo tubo.

#### Soro:

- Coletar amostra de sangue em um tubo coletor de tampa vermelha a vácuo (sem anticoagulantes) por punção venosa.
- Permitir coagulação do sangue.
- Cuidadosamente retirar o soro de dentro do tubo coletor e colocá-lo em um novo tubo.

#### Sangue total:

- Coletar a amostra de sangue por punção na ponta de dedo ou por punção venosa.
  - Coletar a amostra de sangue em tudo a vácuo com tampa roxa, azul ou verde (contendo EDTA, Citrato ou Heparina respectivamente).
  - Não use sangue hemolisado para o teste.
- Testar as amostras assim que possível após a coleta.

Se não realizar o teste imediatamente, as amostras de soro ou plasma devem ser armazenadas entre 2° e 8°C por até 5 dias. As amostras deverão ser congeladas a -20°C para longo período de armazenamento.

Se não realizar o teste imediatamente, as amostras de sangue total devem ser armazenadas em refrigeração (2 - 8°C). As amostras devem ser testadas no prazo de 24 horas após a coleta.

Evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento. Antes de realizar o teste, leve as amostras congeladas ou refrigeradas para a temperatura ambiente e homogeneíze. Amostras contendo partículas visíveis deverão estar limpas por centrifugação antes do teste. Não usar amostras com aparência lipêmica, com hemólise ou turbidez para evitar interferência na interpretação do resultado. Não usar amostras com aparência lipêmica, com hemólise ou turbidez para evitar interferência na interpretação do resultado.

## Procedimento

**1º Passo:** Levar a amostra e os componentes do teste para a temperatura ambiente se refrigerados ou congelados. Uma vez que amostra estiver descongelada, homogeneizar antes da realização do teste.

**2º Passo:** Abrir a embalagem e remover o dispositivo teste. Coloque o dispositivo teste em uma superfície limpa e plana. Rotular o dispositivo teste com o número de identificação da amostra.

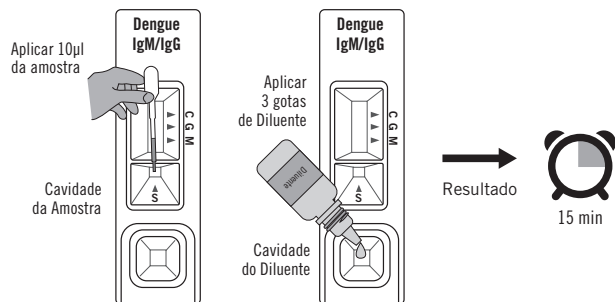
**3º Passo:** Encher a pipeta capilar com a amostra (10µL). Segurar a pipeta capilar verticalmente e dispensar toda a amostra na cavidade da amostra do dispositivo teste. Certifique-se que não existem bolhas de ar.

Adicione 3 gotas (aproximadamente 110-130µL) do tampão diluente no local de aplicação do diluente.

**4º Passo:** Cronometrar o tempo

**5º Passo: Ler o resultado do teste em 15 minutos.**

Não ler o resultado depois de 30 minutos. Para evitar confusões, descartar o dispositivo teste após interpretar os resultados.



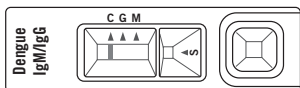
## Controle de Qualidade

**Controle Interno:** O teste contém um controle interno embutido, a linha C. A linha C desenvolve uma coloração VERMELHA após a adição da amostra e do diluente da amostra. Se a linha C não aparecer, reveja todo o procedimento e repita o teste com um novo dispositivo teste.

**Controle Externo:** Não são fornecidos controles externos com esse kit. As Boas Práticas de Laboratório recomendam o uso de controles externos, reagentes e não reagentes, para confirmar o procedimento do teste e para verificar o desempenho apropriado.

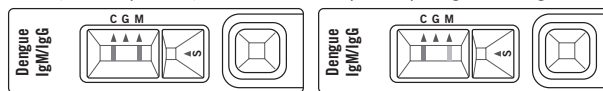
## Interpretação do Resultado

**Resultado Não Reagente:** Se somente a linha C aparecer, a ausência de coloração nas linhas G e M indicam que nenhum anticorpo anti-dengue vírus foi detectado. O resultado é não reagente.

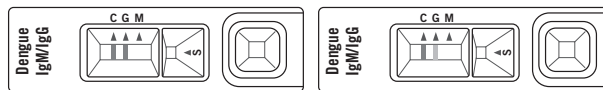


## Resultados Reagentes:

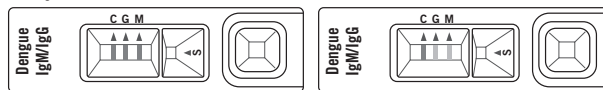
**Resultado IgG Reagente:** Em adição à linha C, se a linha G aparecer, o teste indica a presença de IgG anti-dengue na amostra. O resultado é reagente para IgG, sugerindo estágio primário tardio, secundário precoce ou infecções anteriores. A presença da linha G, mesmo que fraca, indica um resultado positivo para IgG anti-dengue.



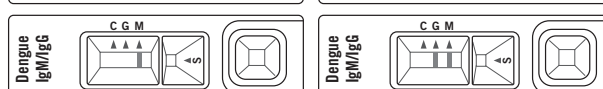
**Resultado IgM Reagente:** Em adição à linha C, se a linha M aparecer, o teste indica presença de IgM anti-dengue. O resultado é IgM reagente, sugerindo infecção primária recente por vírus da dengue. A presença da linha M, mesmo que fraca, indica um resultado reagente para IgM anti-dengue.



**Resultado IgM e IgG Reagentes:** A presença das linhas M e G, mesmo que fracas, indicam um resultado reagente para IgM e IgG anti-dengue. O resultado IgG e IgM reagente sugere infecção pelo vírus da dengue primária atual e secundária ou infecção primária tardia.



**Inválido:** Se a linha C não aparecer, o teste é inválido mesmo com o aparecimento das linhas G e M. A linha controle deverá sempre aparecer se o procedimento for realizado adequadamente. Repetir o teste com um novo dispositivo.



## Desempenho Clínico

Foram usadas 153 amostras biológicas fornecidas por laboratórios clínicos de referência. Os resultados foram comparados com os resultados de um kit Dengue IgG/IgM imunocromatográfico disponível no mercado (método referência), com as mesmas amostras. As amostras foram consideradas reagentes se o resultado do kit referência fosse reagente. Amostras foram consideradas não reagentes se o resultado do kit referência fosse não reagente. A comparação entre os resultados segue abaixo:

Dengue IgG/IgM ECO Teste			
Kit Referência	Reagente	Não reagente	Total
Reagente	53	0	53
Não reagente	0	100	100
Total	53	100	153
Sensibilidade: >99%		Especificidade: >99%	

## Limitações do Teste

Não seguir o correto procedimento do teste pode levar a resultados não precisos. O teste Dengue IgG/IgM ECO Teste é limitado qualitativamente na detecção de anticorpos contra o vírus da dengue em soro, plasma e sangue total. A intensidade da linha teste não possui correlação linear com o título de anticorpos nas amostras. Nenhuma informação de sorotipos de dengue pode ser fornecida com este teste. Reação sorológica cruzada com outros *flavivirus* é comum (Encefalite Japonesa, Oeste Nilo, Febre Amarela, Zika, Chikungunya, etc.). Portanto, é possível que pacientes infectados com esses vírus possam apresentar algum grau de reação cruzada com esse teste.

Um resultado não reagente indica ausência de anticorpos detectáveis para o 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 contra o vírus da dengue presente na amostra estiver abaixo do limite de detecção do teste ou os anticorpos 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 do resultado teste seja não reagente, recomenda-se realizar um novo teste após poucas semanas ou usar uma metodologia alternativa.

Algumas amostras contendo altos títulos de anticorpos heterótipos ou fator reumatoide podem afetar os resultados esperados.

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.
- Innis BL, and Nisalak A, et al: An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *Am. J. Trop. Med. Hygiene*. 1989; 40: 418-427.
- Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997

**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. 80954880005 | Edição: 002/2016