

Instruções de uso

I. Finalidade

Dengue Ac + Ag é um teste imunocromatográfico para a detecção qualitativa do antígeno NS1 e anticorpos IgG e IgM da dengue em amostra de sangue, soro ou plasma. **Uso em diagnóstico *in vitro*.**

II. Usuário pretendido

O teste é destinado a profissionais devidamente habilitados da área de saúde, em ambientes laboratoriais, hospitalares e clínicas.

III. Condições de armazenamento

Conservar na temperatura entre 4-30°C, em local seco, protegido do calor e da luz solar direta e lacrado. Não congelar. Válido por 36 meses após a data de fabricação, se mantidas estas condições de armazenamento. Data de fabricação/ lote: vide embalagem.

IV. Significado Clínico

Dengue é uma doença tropical infecciosa causada por um arbovírus. Arbovírus são vírus transmitidos por picadas de insetos, especialmente os mosquitos. Existem quatro tipos de vírus de dengue (sorotipos 1, 2, 3 e 4).

A confirmação diagnóstica da dengue conta com diferentes métodos laboratoriais. O vírus pode ser detectado no sangue, soro ou plasma por quatro a cinco dias após o início agudo dos sintomas. Nessa fase, entre os testes específicos para a detecção do vírus, a pesquisa do antígeno NS1 é a técnica mais utilizada.

O NS1 é uma glicoproteína altamente conservada, presente em altas concentrações nas amostras de pacientes infectados pelo vírus da dengue, razão pela qual pode ser identificado logo após o surgimento dos sintomas e antes do aparecimento de anticorpos específicos.

O IgM torna-se detectável em infecções primárias entre o quinto e o décimo dia desde o início dos sintomas. Já para os casos de infecção secundária, ele aparece a partir do quarto e quinto dia desde o início dos sintomas.

Por sua vez, o IgG aparece a partir do 14º dia em infecções primárias, mantendo-se por toda a vida. Porém, nas infecções secundárias, os níveis de IgG aumentam em 1 a 2 dias após o início dos sintomas e induzem uma resposta de IgM ao fim de 20 dias de infecção.

V. Tipos de amostras

Sangue, soro ou plasma.

VI. Princípio de Funcionamento

Usado para detectar o antígeno NS1 do vírus da dengue em amostras de sangue, soro ou plasma. Após a adição da amostra, ela reage com partículas marcadas com anticorpo anti-dengue NS1 contidas na membrana pré-revestida. Quando os níveis de antígeno NS1 da dengue são iguais ou superiores ao valor do cut-off (limite de detecção do teste), o antígeno da amostra se liga ao conjugado de anticorpos específicos de NS1 e são capturados por anticorpo anti-NS1 imobilizados na região de teste (T) do dispositivo, produzindo uma linha de teste colorida e indicando um resultado positivo. Quando os níveis de antígeno de NS1 são iguais a zero ou abaixo do valor do cut-off, não há nenhuma linha colorida visível na região de teste (T) do dispositivo. Uma linha colorida sempre aparecerá na área de controle (C) indicando que o teste foi realizado corretamente.

Dengue IgG/IgM

Usado para detectar anticorpos IgG e/ou IgM contra o vírus da dengue em amostras de sangue, soro ou plasma. Ao adicionar a amostra, a mesma é absorvida por ação capilar. Os anticorpos contra a dengue formam um complexo com o antígeno recombinante da dengue marcado com ouro coloidal e este complexo flui através da membrana pré-revestida. Em caso de amostras positivas para dengue, será formada uma linha colorida nas regiões teste T1 e/ou T2. A mistura continua percorrendo a membrana até linha controle (C), onde ocorre a formação de uma linha vermelha, tanto para amostras positivas quanto negativas, a formação dessa linha vermelha demonstra que o teste está adequado para uso. Caso o teste seja negativo, não haverá a formação do complexo e apenas uma linha na região C aparecerá.

VII. Condições para coleta, manuseio, preparo e preservação das amostras

- As amostras de soro, plasma e sangue total devem ser colhidas em um recipiente limpo e seco. Podem ser utilizados anticoagulantes como EDTA, citrato de sódio e heparina;
- Utilize as amostras de sangue imediatamente. Caso ocorra coagulação sanguínea, recomenda-se utilizar amostras de soro;
- Caso o teste não seja realizado imediatamente, as amostras de soro ou plasma coletadas poderão ser armazenadas de 2-8°C por 7 dias ou a -20°C por 2 anos. Amostras de sangue com anticoagulantes podem ser armazenadas de 2-8°C por 24 horas;
- As amostras congeladas e refrigeradas devem ser equilibradas à temperatura ambiente e homogeneizadas antes do teste. Não congele amostras de sangue. Não congele as amostras por mais de 3 vezes;
- Amostras que apresentem precipitados visíveis, mau cheiro ou sujidades não devem ser utilizadas.

VIII. Descrição do produto**Materiais necessários**

- Dispositivo de reação
- Pipeta Descartável
- Solução Diluente
- Solução Diluente contendo 200µl (opcional)
- Lanceta Descartável (opcional)
- Álcool Pad (opcional)
- Instrução de uso

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Tubo para coleta de sangue
- Centrifuga (para amostras de soro e plasma)
- 1 cronômetro

IX. Controle de qualidade

Controle interno: O teste contém um controle interno embutido, a linha controle (C). A linha controle desenvolve uma coloração vermelha após a adição da amostra confirmando se o volume da amostra é suficiente, a absorção da membrana foi adequada e a técnica de procedimento realizada corretamente. Se a linha controle não aparecer, reveja todo o procedimento e repita o teste com um novo dispositivo de reação.

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

X. Procedimento e interpretação de resultados**LEIA CUIDADOSAMENTE AS INSTRUÇÕES DE USO ANTES DE REALIZAR O TESTE.**

Após a abertura do envelope, utilizar o teste no máximo em 1 hora;

Dengue NS1

Adicione 4 gotas (80-100 µL) de sangue, soro ou plasma no poço de amostra para NS1. Se a amostra de sangue estiver espessa, adicione 1 gota (40-50 µL) de diluente;



Figura 1

Dengue IgG e IgM:

Adicione 1 gota (25 µL) de sangue, soro ou plasma no poço de amostra do IgG/IgM, e adicione 2 gotas (80-100 µL) de diluente.



Figura 2

Observe os resultados do teste imediatamente dentro de 15-20 minutos; os resultados serão inválidos após 20 minutos.

NOTA: As figuras acima são apenas para referência. A aparência e a cor dos componentes podem ser diferentes do produto real, o que não afeta o procedimento e interpretação dos resultados.

Interpretação do resultado**Dengue NS1**

Positivo: duas linhas coloridas aparecerão, uma linha na área de teste (T) e outra linha na área controle (C). O resultado é considerado positivo independente da tonalidade da linha na área de teste (T).

Negativo: somente uma linha vermelha aparecerá na área de controle (C) e nenhuma linha aparecerá na área de teste (T).

Inválido: nenhuma linha colorida aparecerá, ou nenhuma linha aparecerá na área de controle (C). A linha na área de controle indica que o teste foi efetuado corretamente.

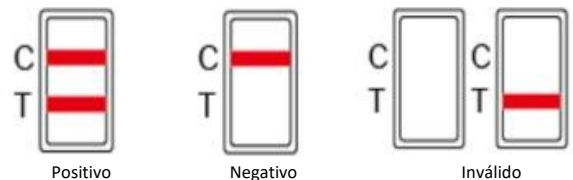


Figura 3

NOTA: Os resultados negativos podem ocorrer se o nível de antígeno/anticorpo na amostra estiver abaixo do limite de detecção do teste ou se a coleta de amostra for inadequada, porém os resultados negativos não excluem a infecção pelo vírus da dengue. Em caso de pacientes sintomáticos com teste de resultado negativo, o paciente deve procurar auxílio médico e realizar outro teste.

IgG e IgM Positivo: Três linhas coloridas distintas aparecem nas regiões de controle (C), na região de teste IgG (G) e na região de teste IgM (M), indicando positivo para Dengue IgG e IgM.

IgG Positivo: Duas linhas coloridas distintas aparecem. Uma linha deve estar na região de controle (C) e outra na região de teste IgG (G), indicando positivo para Dengue IgG.

IgM Positivo: Duas linhas coloridas distintas aparecem. Uma linha deve estar na região de controle (C) e outra na região de teste IgM (M), indicando positivo para Dengue IgM.

Negativo: Uma linha colorida aparece na região de controle (C). Nenhuma linha aparece nas regiões de teste (G e M).

Inválido: Nenhuma linha colorida aparece ou a linha de controle não aparece, indicando erro ou falha do reagente. Verifique o procedimento do teste e repita o teste com um novo dispositivo.

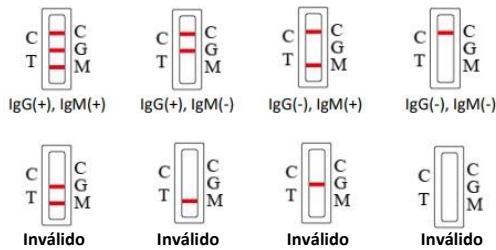


Figura 4

NOTA: Dengue Ac + Ag é um ensaio qualitativo servindo apenas como teste para triagem, não podendo ser utilizado como único critério para diagnóstico.

Qualquer intensidade de cor na área de teste (T) deve ser considerada como positivo. (Figura 5).



Figura 5

Podem ocorrer diferenças na intensidade de cor entre a área de teste e a área controle, mas isso não afeta a interpretação dos resultados. Essa diferença é devido aos níveis de antígeno e anticorpo na amostra do paciente.

XI. Limitações do procedimento

- Os resultados finais do teste devem ser determinados pela combinação dos dados do paciente histórico médico e outros resultados de testes;
- O kit é usado apenas para auxiliar ao diagnóstico, o diagnóstico deve ser avaliado de forma abrangente por profissionais em combinação com sintomas, sinais e outros exames complementares;
- É comum ocorrer reações sorológicas cruzadas com Flavivírus (ou seja, entre os tipos de dengue 1, 2, 3, 4 e encefalite de St. Louis, vírus do Nilo Ocidental, encefalite japonesa, vírus da febre amarela, Chikungunya, zika, etc);
- Este teste foi desenvolvido apenas para testar amostras de sangue, soro ou plasma. O desempenho deste teste usando outras amostras não foi comprovado;
- O antígeno NS1 está presente a partir do 1º dia após o início dos sintomas, sendo que até o 5º dia ainda está em fase crescente. Após o 15º dia de sintomas, a concentração do antígeno diminui rapidamente, podendo ocasionar resultados falsos negativos. Por isso, o melhor momento para testar a dengue é de 6 a 14 dias após o início dos sintomas, pois é nessa fase que ocorre o pico de concentração do antígeno NS1.
- A presença ou ausência de anticorpos não pode ser utilizada para determinar o sucesso do tratamento.
- Amostras com altas concentrações de fator reumatoide ou anticorpos heterofílicos podem causar resultados falso-positivos.
- Resultados negativos podem ocorrer em amostras infectadas recentemente ou em reinfecção, indicando que os anticorpos específicos de Dengue IgM não estão presentes ou estão em concentração abaixo do limite de detecção. Alguns pacientes podem não produzir anticorpos suficientes para serem detectados em um período de 7-10 dias, resultando em resultados negativos. Se a infecção por dengue ainda for suspeita em alguns pacientes, recomenda-se realizar um novo teste rápido para dengue 3-4 dias depois.

XII. Substâncias interferentes

Para a verificação de substâncias interferentes possivelmente presentes nas amostras biológicas que podem comprometer o desempenho do teste, foi realizado um ensaio em três lotes do produto Dengue Ac + Ag com 10 amostras biológicas com perfis de reatividade negativa para Dengue contaminadas com diferentes substâncias (Triglicerídeos, Hemoglobina e Bilirrubina). Posteriormente foram coletadas outras 10 amostras negativas para Dengue e positivas para Fator Reumatoide. Verificou-se que essas substâncias não interferem nos resultados do teste até as concentrações relacionadas na tabela abaixo.

Substâncias	Concentração
Triglicerídeos	5.65 mmol/L
Hemoglobina	6.50g/L
Bilirrubina	1000 µmol/L
Fator Reumatoide	555,4 UI/mL

A reação cruzada foi determinada através de um ensaio em três lotes do produto Dengue Ac + Ag com 10 amostras de sangue, soro e plasma, com perfis de reatividade negativas para Dengue, coletados de pacientes positivos para Hepatite C, Hepatite B, Hepatite A, Hepatite E, Sífilis, HIV, Virus tifoide, Antígenos de Influenza A e Influenza B. Verificou-se que as substâncias citadas não interferem nos resultados do teste.

XIII. Características de desempenho

A. Sensibilidade Analítica

Para determinar a sensibilidade analítica do produto Dengue Ac + Ag, foram realizados ensaios em três lotes com amostras de sangue total, soro e plasma. Para Dengue NS1 foram selecionadas amostras com as concentrações de $5,2 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo I), $4,7 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo II), $4,2 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo III), e $4,8 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo IV) e diluídas em diversas concentrações, denominadas R10, R1, R2, R3, R4, R5, R10, R11, R12, R14, R110, R111, R112, R113, R114, R10, R11, R12, R13 e R14. Para Dengue IgM foram selecionadas amostras de soro e sangue com as concentrações de 50U, 35U, 23U, 11.5U e 8U, amostras de plasma com as concentrações de 46U, 23U, 15U, 11.5U e 7.5U. Foram realizadas repetições para cada concentração. Posteriormente foi realizado uma validação, sendo assim, a sensibilidade analítica do teste foi determinada em $5,2 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo I), $4,7 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo II), $2,1 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo III), e $2,4 \times 10^6$ TCID₅₀/mL (tipo IV) para antígeno NS1 e em 11,5U para anticorpos IgG e IgM.

B. Exatidão da medição (sensibilidade e especificidade diagnóstica)

Foram utilizadas 320 amostras de sangue, soro e plasma para a realização do ensaio de determinação qualitativa de antígeno da dengue NS1 determinadas através dos resultados de teste rápido. Sendo 144 amostras com perfil de reatividade positivo e 176 amostras com perfil de reatividade negativo.

		Teste Referência		
		Positivo	Negativo	
Dengue NS1	Positivo	138	6	144
	Negativo	6	170	176
		144	176	

Sensibilidade: $138/144 = 0,9583 \times 100 = 95,83\%$ (CI 95%: 91,21-98,08%)
Especificidade: $170/176 = 0,9659 \times 100 = 96,59\%$ (CI 95%: 92,76-98,43%)

Para IgG, foram utilizadas 303 amostras de sangue, soro e plasma para a realização do ensaio de determinação qualitativa, determinadas através dos resultados de teste rápido. Sendo 105 amostras com perfil de reatividade positivo e 198 amostras com perfil de reatividade negativo.

		Teste Referência		
		Positivo	Negativo	
Dengue IgG	Positivo	101	7	108
	Negativo	4	191	195
		105	198	

Sensibilidade: $101/105 = 0,9619 \times 100 = 96,19\%$ (CI 95%: 90,61-98,51%)
Especificidade: $191/198 = 0,9646 \times 100 = 96,46\%$ (CI 95%: 92,88-98,28%)

E para IgM foram utilizadas 303 amostras de sangue, soro e plasma para a realização do ensaio de determinação qualitativa, determinadas através dos resultados de teste rápido. Sendo 104 amostras com perfil de reatividade positivo e 199 amostras com perfil de reatividade negativo.

		Teste Referência		
		Positivo	Negativo	
Dengue IgM	Positivo	99	9	108
	Negativo	5	190	195
		104	199	

Sensibilidade: $99/104 = 0,9519 \times 100 = 95,19\%$ (CI 95%: 89,24-97,93%)
Especificidade: $190/199 = 0,9548 \times 100 = 95,48\%$ (CI 95%: 91,63-97,60%)

C. Precisão de medição

Repetibilidade: Para determinar a repetibilidade do produto Dengue Ac + Ag, foram realizados ensaios em três lotes do produto, sendo 2 repetições por dia, executadas por 2 operadores, durante 5 dias com 20 amostras de perfil de reatividade positivo, 20 amostras positiva fraca e 20 amostras negativas para detecção qualitativa do antígeno NS1 e anticorpos IgG e IgM da dengue. As determinações foram corretamente identificadas em 100% dos casos e a análise da repetibilidade foi baseada no resultado obtido dentro de um mesmo lote.

Reprodutibilidade: Para determinar a reprodutibilidade do produto Dengue Ac + Ag, foram realizados ensaios em três lotes do produto, sendo 2 repetições por dia, executadas por 2 operadores, durante 5 dias com 20 amostras de perfil de reatividade positivo, 20 amostras positiva fraca e 20 amostras negativas para detecção qualitativa do antígeno NS1 e anticorpos IgG e IgM da dengue. As determinações foram corretamente identificadas em 100% dos casos e a análise da reprodutibilidade foi baseada no resultado obtido dentro dos três lotes.

XIV. Precauções

- Produto de uso único. Descartar após o uso. Não reutilizar;
- Se a embalagem estiver danificada ou violada, não utilizar o teste;
- Não use o produto se a data de validade estiver expirada;
- Use luvas de proteção ao manusear as amostras para evitar contaminação e lave as mãos completamente depois;
- A pipeta não pode ser reutilizada, evitando contaminação cruzada;
- Descarte o dispositivo de acordo com as normas vigentes;
- A intensidade da linha de controle não indica falha no teste;
- Todas as amostras e reagentes devem ser considerados potencialmente perigosos e manuseados da mesma forma que um agente infeccioso após a utilização.

XV. Termos e condições de garantia de qualidade

A MR Saúde Ltda obedecendo o que estabelece o Código de Defesa do Consumidor e, portanto, para que o produto apresente o seu melhor desempenho estabelece que:

- O usuário leia e siga rigorosamente os procedimentos;
- Os materiais estejam armazenados em condições indicadas.

Quaisquer problemas que venham ocorrer por falha da empresa, serão resolvidos sem ônus para o cliente.

FABRICANTE:

Qingdao Hightop Biotech Co., Ltd.

No.369 Hedong Road, Hi tech Industrial Development Zone, Qingdao, Shandong, 266112, China.

REGULARIZADO POR:

MR SAÚDE LTDA – CNPJ: 26.386.899/0001-16

Rua Governador Valadares, 104A - Chácaras Reunidas São Vicente - São José da Lapa MG - CEP: 33350-000

Resp. Téc.: Bárbara Thamyres Barra Gonçalves - CRBM-3: 14736

ANVISA: 82533950098

Atendimento ao consumidor:

SAC: 31 97234-2932

E-mail: qualidade@mrsaudebrasil.com.br