

USO PRETENDIDO

Kit para determinação de IgG/IgM anti-vírus da Dengue por método imunocromatográfico.

IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Dengue é uma doença tropical infecciosa causada por um arbovírus da família *Flaviviridae*, gênero *Flavivírus* e que inclui quatro tipos imunológicos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. Os sintomas incluem febre, dor de cabeça, dores musculares e articulares e uma erupção cutânea característica que é semelhante à causada pelo sarampo. Em uma pequena proporção de casos, a doença pode evoluir para a dengue hemorrágica com risco de morte, resultando em sangramento, baixos níveis de plaquetas sanguíneas, extravasamento de plasma no sangue ou até diminuição da pressão arterial a níveis perigosamente baixos. A dengue é transmitida por várias espécies de mosquito do gênero *Aedes*, principalmente o *Aedes aegypti*. Seu período de incubação é de 3 a 15 dias, com média de 5 a 6 dias. O achado laboratorial importante é a trombocitopenia. A febre hemorrágica da Dengue ocorre em 2 a 4% dos indivíduos reinfetados. Devido à sua alta morbidade e mortalidade a Dengue é considerada uma das mais importantes doenças virais. A produção de IgM ocorre por volta do 5º ao 8º dia a partir do aparecimento dos sintomas, persistindo geralmente por 30 a 60 dias, podendo, em alguns casos, estar presente por meses; seu aparecimento indica uma infecção recente ou fase aguda da doença. Já a produção de IgG ocorre por volta do 14º dia, podendo persistir por toda a vida e caracteriza uma infecção pregressa. Como a infecção por um subtipo não confere imunidade aos demais subtipos, podem ocorrer reinfecção ou infecção secundária, com aumento de IgG específica após 1 a 2 dias do aparecimento dos sintomas e surgimento de IgM específica mais tardiamente. O ImunoTest DENGUE IgG/IgM é um teste imunocromatográfico, fase sólida, para a detecção qualitativa e diferencial de anticorpos IgG e IgM contra os 4 sorotipos do vírus da Dengue em soro e plasma humano.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Quando imunoglobulinas específicas da Dengue, IgG e/ou IgM, estão presentes na amostra, elas ligam-se aos antígenos recombinantes (DEN-1, DEN-2, DEN-3 ou DEN-4) do envelope viral conjugados com ouro coloidal. Esta reação forma um complexo antígeno-anticorpo que migra por capilaridade pela membrana da placa-teste e são capturados por anti-IgG e/ou anti-IgM humanas imobilizadas em duas áreas distintas, determinando o surgimento de uma banda rosa característica nas áreas correspondentes. Se a amostra não contiver anticorpos anti-Dengue, nenhuma banda colorida aparecerá nas respectivas áreas. Um

reagente controle imobilizado na membrana da placa-teste determinará o surgimento de uma terceira banda rosa, cuja presença demonstrará que os reagentes estão funcionando corretamente (área controle "C").

APRESENTAÇÃO DO KIT

25 determinações

1. Placa –Teste: 25 unidades
2. Solução diluente 1x3 mL
3. Instrução de uso.

PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

PLACA TESTE: Pronto para uso. Estável até seu vencimento quando conservado entre 2°C - 30°C. SOLUÇÃO DILUENTE: Tampão fosfato contém azida sódica 0,095% como conservante. Pronto para uso. Estável até seu vencimento quando conservado entre 2°C-30°C.

MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO.

- Pipeta automática
- Papel absorvente.
- Recipiente para descarte de material.
- Cronômetro

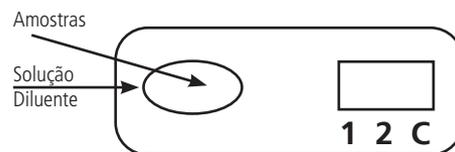
AMOSTRAS

Usar soros ou plasmas obtidos com EDTA, Citrato de sódio e Heparina, livres de hemólise, lipemia e contaminação. Recomenda-se usar amostras frescas. Se isto não for possível, as amostras devem ser conservadas em geladeira entre 2-8 °C por 1 semana. Para longos períodos devem ser mantidas no freezer a -20°C. ATENÇÃO: Se a amostra for mantida no freezer, ela deverá ser descongelada e homogeneizada completamente, mantendo-a, posteriormente, em posição vertical para permitir que qualquer partícula que possa existir em suspensão seja sedimentada. Não agitar a amostra. Amostra diluída pode ocasionar resultado falso-negativo.

PROCEDIMENTO

Placa-Teste

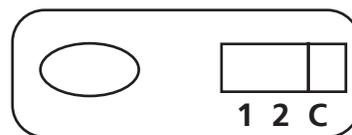
1. Deixe a placa-teste, amostras e solução diluente atingirem a temperatura ambiente, caso estejam armazenadas em geladeira, antes de realizar o teste.
2. Remova a placa-teste da embalagem e use imediatamente.
3. Coloque a placa-teste em uma superfície plana e seca.
4. Adicionar 10µl da amostra no espaço destinado para esta, conforme figura ao lado:



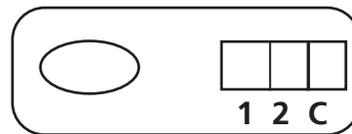
1. Adicionar 2 gotas (80µl) da solução diluente.
2. Fazer a leitura dos resultados entre 15 a 20 minutos. Não considerar resultados lidos após 25 minutos.

LEITURA DOS RESULTADOS

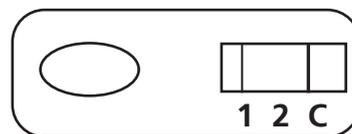
NEGATIVO: Somente uma banda colorida aparecerá na área controle (C).



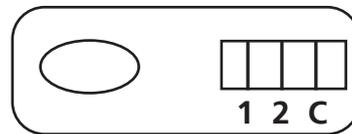
POSITIVO IgM (infecção primária): Aparecerão duas bandas coloridas, uma na área teste 2 (2) e outra na área controle (C).



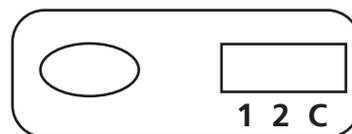
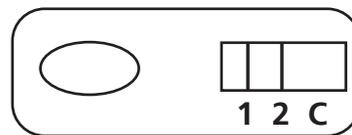
POSITIVO IgG (infecção secundária ou passada): Aparecerão duas bandas coloridas, uma na área teste 1 (1) e outra na área controle (C).



POSITIVO PARA IgG e IgM (infecção primária tardia ou infecção secundária precoce): aparecerão 3 bandas coloridas, duas na área de Teste, nas posições 1 e 2 e uma na área controle.



INVÁLIDO: Se não surgir uma banda nas áreas do teste (1) e (2) e controle (C), ou se não surgir banda no controle (C). Nestas situações repete-se o teste, utilizando uma nova placa.



DESEMPENHO DO TESTE

Um estudo comparativo com outro kit comercial da mesma metodologia mostrou que o ImunoTest Dengue IgG/IgM tem sensibilidade de 99% e especificidade de 98%.

PRECISÃO

Intra-Ensaio

O kit ImunoTest Dengue IgG/IgM foi testado quanto à repetibilidade usando 4 amostras (reagente fraco, reagente médio, reagente forte e não reagente). Foram realizadas 10 repetições do teste com mesmo operador no mesmo dia. Os testes foram realizados de acordo com as instruções de uso. De acordo com os testes realizados, foi verificado que o kit ImunoTest Dengue IgG/IgM repetiu de maneira satisfatória os resultados com as amostras testadas nas mesmas condições em mais de 99% das vezes. As variações obtidas das tonalidades das bandas estão dentro do esperado, não prejudicando a eficácia do teste.

Inter-Ensaio

O kit ImunoTest Dengue IgG/IgM foi testado quanto à reprodutibilidade usando 4 amostras (reagente fraco, reagente médio, reagente forte e não reagente). Foram realizadas 10 repetições do teste com operadores diferentes utilizando 3 lotes do kit ImunoTest Dengue IgG/IgM por um período de 3 meses. Os testes foram realizados de acordo com as instruções de uso. De acordo com os testes realizados foi verificado que o kit ImunoTest Dengue IgG/IgM reproduz de maneira satisfatória os resultados com as amostras testadas, mesmo em diferentes condições, em mais de 99% das vezes. As variações obtidas das tonalidades das bandas estão dentro do esperado, não prejudicando a eficácia do teste.

SIMBOLOGIA

REF Número do catálogo

IVT Produto diagnóstico *in vitro*

 Consultar instruções de uso

 Limite de temperatura

 O conteúdo é suficiente para (n) testes

LOT Número do lote

 Data limite de utilização

LIMITAÇÕES DE USO

1. O ImunoTest DENGUE IgG/IgM (Soro e Plasma humanos) é usado somente para diagnóstico "in vitro". O teste deverá ser usado para detecção de anticorpos antidengue somente em amostras de soro e plasma humanos. O valor quantitativo e a taxa de aumento da concentração de anticorpos anti-dengue não podem ser determinados, pois se trata de um teste qualitativo.
2. O ImunoTest DENGUE IgG/IgM somente indicará a presença de anticorpo antidengue nas amostras, não devendo ser usado como critério exclusivo para o diagnóstico de infecção pelo vírus da dengue.
3. Como em todos os testes diagnósticos, os resultados devem ser interpretados junto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
4. Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, um teste adicional realizado com outros métodos clínicos é recomendado. Um resultado negativo não impede a possibilidade de infecção pelo vírus da dengue.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".
2. Ler cuidadosamente as instruções de uso antes de realizar o teste.
3. A data de validade corresponde ao último dia do mês assinalado na etiqueta do envelope da placa-teste e da caixa do kit. Não usar componentes do kit após a data de validade.
4. Deve-se evitar expor o kit a temperaturas elevadas, bem como diretamente ao sol.
5. Não congelar a placa-teste, pois isto causará deterioração irreversível.
6. Como se emprega azida sódica a 0,095% como conservante, o descarte dos reativos deve ser acompanhado de grandes volumes de água para evitar o acúmulo de resíduos de azida nos encanamentos, pois esta pode reagir com chumbo e cobre formando sais altamente explosivos. Além disso, a azida é tóxica quando ingerida.
7. Deixar os reagentes adquirirem a tempe-

ratura ambiente antes de iniciar os testes.

8. Não substituir componentes deste kit com o de outros fabricantes, nem usar componentes de lotes e códigos diferentes.
9. Descarte o material conforme regulamentação local.
10. Utilizar as Boas Práticas de Laboratório (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.
11. Produto de uso único
12. Uso profissional
13. Não utilizar o kit caso a embalagem esteja danificada.

BIBLIOGRAFIA

1. BRANCH, S. L. e LEVETT, P. N. Evaluation of four methods for detection of immunoglobulin M antibodies to Dengue virus. Clin. Diagn. Lab. Immunol., v. 6, n. 4, p. 555-557, 1999.
2. GROEN, J. et al. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue virus-specific immunoglobulin M and G antibodies. Clin. Diagn. Lab. Immunol., v. 7, n. 6, p. 867-871, 2000.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2ª ed. Geneva: WHO, 1997.

TERMO DE GARANTIA

A RennyLab Química e Farmacêutica garante a troca deste conjunto diagnóstico, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e que seja comprovado por sua assessoria técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A RennyLab e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.

Fabricado e distribuidor por:

RennyLab Química e Farmacêutica Ltda
Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras
Cep: 36.205-666 - Barbacena – MG - Brasil
Tel.: 55 32 3331-4489
CNPJ: 00.562.583/0001-44
www.renylab.ind.br
Responsável técnico: Dr. Renê Vaz de Mello.
CRF-MG:2709
MS: 80002670074