

DENGUE - EIC IgG/IgM

MÉTODO

Imunocromatografia (EIC - Ensaio Imunocromatográfico).

FINALIDADE

Kit para a detecção rápida, qualitativa e diferencial de anticorpos anti-IgG e anti-IgM contra os 4 sorotipos do vírus da dengue em soro e plasma humano.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Nos testes positivos, as imunoglobulinas específicas da dengue (IgG e/ou IgM) presentes na amostra 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 é capturado por anti-IgG e/ou anti-IgM humanas imobilizadas em duas áreas distintas, determinando o surgimento de uma banda rosa característica nas áreas correspondentes.

Nos testes negativos (ausência de 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").

SIGNIFICADO CLÍNICO

A dengue é uma arbovirose causada por um Flavivirus pertencente à família Flaviviridae. A doença é transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*, apresentando quatro sorotipos conhecidos (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4). Seu período de incubação é de 3 a 15 dias, com média de 5 a 6 dias.

Os sintomas clínicos são caracterizados por febre alta (39 °C a 40 °C), de início abrupto, seguido de cefaléia, mialgia, prostração, artralgia, dor retroorbital, astenia, anorexia, náuseas, vômitos, exantema e prurido cutâneo. As formas hemorrágicas da doença são as mais graves, podendo ocorrer: gengivorragia, petéquias e equimoses, gastroenterorragia, choque e morte. O achado laboratorial importante é a trombocitopenia.

A febre hemorrágica da dengue ocorre em 2 a 4% dos indivíduos reinfetados.

Devido a sua alta morbidade e mortalidade, a dengue é considerada uma das mais importantes doenças virais. Ela se concentra principalmente em áreas tropicais e subtropicais do mundo, sendo que as epidemias ocorrem durante ou imediatamente após períodos chuvosos. Estima-se que 2,5 bilhões de pessoas residam em áreas com risco potencial de transmissão do vírus.

No Brasil, entre 1990 e 2000, os sorotipos DEN-1 e DEN-2 se disseminaram, com registro de epidemias principalmente nos grandes centros urbanos do sudeste e nordeste. Em 2003, os sorotipos DEN-1, DEN-2 e DEN-3 foram isolados em 23 estados e observou-se um número crescente de internações por febre hemorrágica da dengue. A doença tem ocorrido de forma endêmica, com picos epidêmicos nos primeiros quadrimestres anuais e circulação dos sorotipos DEN-1, DEN-2 e DEN-3. Essa situação, associada à limitada efetividade no controle do vetor e à ausência de uma vacina eficaz, aumentou o risco da ocorrência de febre hemorrágica e síndrome do choque da dengue.

Atualmente, os testes rápidos se tornaram uma forma segura para o diagnóstico da infecção primária e secundária da dengue, pois as informações obtidas são essenciais para a tomada de conduta.

Essas informações estão associadas à resposta imune, uma vez que a produção de IgM por volta do 5º ao 8º dia do aparecimento dos sintomas, podendo persistir por 30 a 60 dias e em alguns casos, por alguns meses, indica uma infecção recente ou fase aguda da doença. A produção de IgG ocorre por volta do 14º dia, podendo persistir por toda a vida caracterizando uma infecção pregressa.

Como a infecção por um subtipo não confere imunidade aos demais subtipos, poderá ocorrer reinfeção ou infecção secundária, com aumento de IgG específica após 1 a 2 dias do aparecimento dos sintomas e surgimento de IgM específica mais tardiamente.

REAGENTES

1. Placa-Teste: Contém antígenos recombinantes do envelope viral da dengue conjugado com ouro coloidal, anti-dengue IgG de coabaia, anti-IgG e anti-IgM humanas monoclonais. Pronta para uso.

2. Diluente: Solução de tampão fosfato salino e azida sódica 0,095%, como conservante.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados em temperatura entre 2-30 °C e for evitada a contaminação durante o uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Micropipeta;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- Deve-se evitar expor o kit a temperaturas elevadas, bem como diretamente ao sol.
- O Diluente contém azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- Não congelar a placa-teste, pois isso causará deterioração irreversível.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.

AMOSTRA

SORO e PLASMA (EDTA, heparina e citrato).

Usar amostras livres de hemólise, lipemia e contaminação bacteriana.

Recomenda-se usar amostras frescas. Se isso não for possível, as amostras devem ser conservadas em geladeira entre 2 - 8 °C por 1 semana. Para um tempo maior, armazenar as amostras no freezer a -20 °C.

Atenção

Se a amostra foi mantida no freezer, ela deverá ser descongelada e homogeneizada completamente. Posteriormente, deixá-la 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 DO TESTE

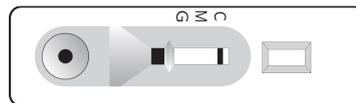
1. Deixar a Placa-Teste, o Diluente e as amostras atingirem a temperatura ambiente antes de realizar o teste.
 2. Retirar a Placa-Teste da embalagem e usar imediatamente.
 3. Colocar a Placa-Teste em uma superfície plana e seca.
 4. Pipetar 5 µL da amostra dentro do espaço destinado para esta, marcada com "S".
 5. Pingar 3 gotas (90 µL) do Diluente (2) no orifício localizado na extremidade da Placa-Teste.
 6. Fazer a leitura dos resultados entre 20 e 25 minutos.
- Não considerar resultados lidos após 25 minutos.

RESULTADOS

ATENÇÃO: Para este teste, considerar apenas as marcações C, M e G do cassete para análise dos resultados. Qualquer outra marcação deverá ser desconsiderada.

Negativo

Somente uma banda rosa-claro aparecerá na área do controle (C). Não foram detectados anticorpos IgG e IgM anti-dengue. Fazer um novo teste após 3 a 5 dias se ainda houver suspeita de infecção por dengue.



Positivo para IgM (infecção primária da dengue)

Aparecerão duas bandas de cor rosa-claro, uma na área (C) e outra na área do controle (C).



Positivo para IgG (infecção secundária ou passada da dengue)

Aparecerão duas bandas de cor rosa-claro, uma na área (G) e outra na área do controle (C).



Positivo para IgG e IgM (infecção primária tardia ou infecção secundária precoce da dengue)

Aparecerão três bandas de cor rosa-claro, uma na área (M), outra na área (G) e outra na área do controle (C).



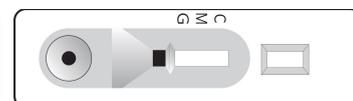
Observação

Qualquer intensidade de cor rosa nas áreas testes deve ser considerado como positivo.

Inválida

Se não surgir nenhuma banda visível nas áreas (M), (G) e do controle (C) ou se não surgir banda na área do controle (C).

Recomendamos repetir o teste, utilizando uma nova Placa-Teste.



Atenção

Não considerar resultados após o tempo determinado para leitura.

IMPORTANTE

- O DENGUE-EIC somente indicará a presença de anticorpo anti-dengue nas amostras, não devendo ser usado como critério exclusivo para o diagnóstico de infecção pelo vírus da dengue.**
- Como em todos os testes diagnósticos, os resultados devem ser interpretados junto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.**
- Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, um teste adicional realizado com outros métodos é recomendado.
Um resultado negativo não impede a possibilidade de infecção pelo vírus da dengue.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve ter implementado um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).

O aparecimento da linha colorida (rosa) na posição controle (C) é indicativo de um desempenho adequado do teste.

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle positivas e negativas.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁴

Sensibilidade Clínica ou Diagnóstica

99% de sensibilidade. Foram realizados testes em 102 amostras do controle de qualidade sabidamente positivas para dengue, tendo sido obtidos 101 resultados positivos e 1 negativo.

Especificidade Clínica ou Diagnóstica

98% de especificidade. Foram realizados testes em 200 amostras do controle de qualidade sabidamente negativas para dengue, tendo sido obtidos 196 resultados negativos e 4 positivos.

Repetibilidade - Precisão intra-ensaio

Os estudos foram realizados utilizando 10 replicatas em 4 amostras sendo uma negativa, uma baixo positiva, uma médio positiva e uma alto positiva. A negativa, a baixo positiva, a médio positiva e a alto positiva foram corretamente identificadas em mais de 99% das vezes.

Reprodutibilidade - Precisão inter-ensaio

Os estudos foram realizados utilizando 10 ensaios independentes nas mesmas 4 amostras, sendo uma negativa, uma baixo positiva, uma médio positiva e uma alto positiva. Três lotes diferentes foram testados por um período de 3 meses usando amostras negativas, baixo positivas, médio positivas e alto positivas. As amostras foram corretamente identificadas em mais de 99% das vezes.

OBSERVAÇÕES

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade do reagente e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. WHO 2^o Edition 1997.
- Songee L. ranch and Paul N. Levett, Evaluation of four methods for detection of immunoglobulin M antibodies to dengue virus. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 6(4) p 555-557, 1999.
- Jan Groen et al. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue-virus specific immunoglobulin M and G Antibodies. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol 7(6) p 867-871, 2000.

APRESENTAÇÃO

Ref.	Nº de testes	Reagentes	Volume
536	20	Placa Teste	20
		Diluyente	1 x 3 mL

Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda.

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira - MG

CEP: 35903-053 Tel.: (31) 3067-6400

CNPJ 42.837.716/0001-98

Fabricado por Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363, Carlos Prates,

Belo Horizonte - MG CEP:30710-020

Te.: (31)3272-1888 CNPJ: 03.142.794/0001-16

Registro MS 8002230161

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A In Vitro Diagnóstica garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 12/20