

Bioclin

DENGUE BIO

K105

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste imunocromatográfico rápido para determinação qualitativa de anticorpos IgM e IgG para o vírus da Dengue em amostras de sangue total, soro ou plasma.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Imunocromatografia.

O kit Dengue BIO é um teste imunocromatográfico que detecta separadamente anticorpos das classes IgM e IgG para o vírus da Dengue. O kit contém anticorpos de cabra anti-IgG humano na linha teste para IgG, e anticorpos de cabra anti-IgM humano na linha de teste para IgM. Após a adição da amostra, antígenos do vírus da Dengue conjugado a partículas de ouro coloidal, presentes no kit, se ligam aos anticorpos da amostra e migram por capilaridade através da membrana. Em caso de amostras positivas para IgG, será formada uma linha vermelha na região teste para IgG. Amostras positivas para IgM formarão uma linha vermelha na região teste para IgM. A mistura amostra-antígeno continua percorrendo a membrana até linha controle, onde ocorre a formação de uma linha vermelha, tanto para amostras positivas quanto negativas. A formação da linha vermelha demonstra que o kit está adequado para uso.

REAGENTES

Reagente nº 1:

Cassete – Conservar entre 15 e 30°C. Não congelar. Contém:

- Região de controle C: IgG de coelho anti anticorpo de cabra;
- Região de teste G (T1): Anticorpo de cabra anti-IgG humano;
- Região de teste M (T2): Anticorpo de cabra anti-IgM humano;
- Conjugado: Antígeno do Vírus da Dengue (I,II,III e IV) conjugado com partículas de ouro coloidal.

Reagente nº 2: Diluente – Tampão Tris 100 mmol/L pH 7,4, conservante.

APRESENTAÇÕES

Reagente	Apresentação	Embalagem - número de cassetes	Volume da Solução diluente
Cassete + Solução diluente	1	10	1,00 mL
	2	25	2,50 mL
	3	50	2 x 2,50 mL
	4	100	4 x 2,50 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Relógio ou cronômetro. Podem ser encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

1. Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
2. Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
3. Os cassetes não apresentam substâncias contaminantes, mas como as amostras são biológicas, as rotinas de segurança devem ser seguidas com rigor e o uso de luvas descartáveis é imprescindível.
4. Usar recipientes limpos e secos para acondicionar as amostras;
5. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo aos critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.
6. O Reagente Nº 2 contém Ázida sódica, irritante para pele e mucosas. Manusear com cuidado o reagente.

AMOSTRAS

Sangue total: Devem ser armazenadas de 2 a 8 °C e testadas até 24 horas após a coleta.

Plasma e soro: Devem ser separados da interface sanguínea imediatamente após a centrifugação, que deve ocorrer em seguida a coleta. O plasma ou soro pode ser estocado por até 3 dias entre 2 e 8 °C e 6 meses a -20 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

- 1 - A amostra deve estar em temperatura entre 15 e 30 °C antes de iniciar o teste.
- 2 - Retirar a tira reativa da embalagem protetora e identificá-la de forma adequada.
- 3 – Transferir 10 µL de sangue total, plasma ou soro dentro da janela de amostra.
- 4 – Segurar o frasco verticalmente e aplicar 2 gotas (100 µL) de diluente no poço da amostra.
- 5 - Aguardar a formação das linhas após o repouso de 15 a 20 minutos. Não interpretar após 20 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

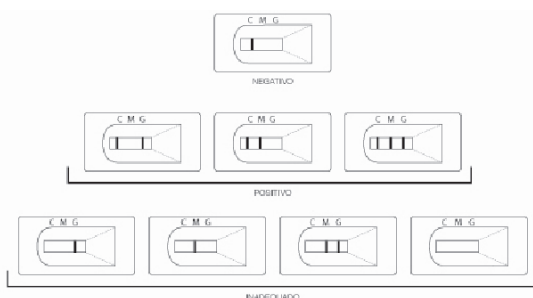
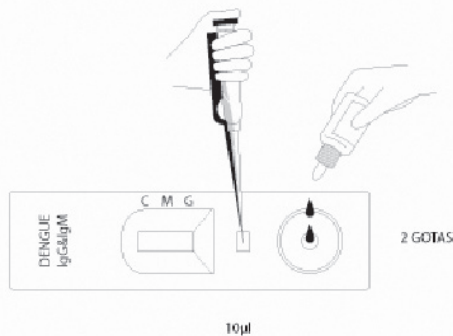
Teste positivo para IgG: Formação uma linha vermelha na região teste G (T1) e outra linha na região do controle (C) nos primeiros 15 a 20 minutos.

Teste positivo para IgM: Formação uma linha vermelha na região teste M (T2) e outra linha na região do controle (C) nos primeiros 15 a 20 minutos.

Teste positivo IgM e IgG: Formação duas linhas vermelhas na região teste (G = T1 e M = T2) e uma linha vermelha na região do controle (C) nos primeiros 15 a 20 minutos.

Teste negativo: Formação de uma linha vermelha na região controle (C) e ausência completa de linha vermelha nas regiões testes (G = T1 e M = T2).

Resultado inválido: Ausência completa de linha na região controle (C) com ou sem linha vermelha nas regiões testes (G = T1 e M = T2). Testar a amostra novamente.



Notas:

1. Resultados negativos só devem ser lidos em 10 minutos, e não antes ou depois desse tempo.
2. A linha na região controle pode aparecer antes dos 10 minutos de incubação do teste, e isso não significa que resultados negativos podem ser interpretados antes do tempo.
3. Os resultados não devem ser interpretados após esse 20 minutos para evitar resultados incorretos.

INTERFERENTES

Reatividade cruzada com outros vírus do grupo flavivírus pode ser comum, segundo referências bibliográficas, porém não foram evidenciadas nos testes de desenvolvimento do produto.

CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de Controles positivo e negativo para assegurar um desempenho adequado do método.

LIMITAÇÕES

1. O kit Dengue BIO Bioclin é um teste qualitativo e deve ser usado somente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. O Kit Dengue BIO Bioclin determina apenas a presença de anticorpos contra o vírus da Dengue (I, II, III e IV) e não deve ser usado isoladamente como critério de diagnóstico. Resultados positivos devem ser avaliados com outras informações clínicas disponíveis. Os resultados isolados do teste não podem ser utilizados para o diagnóstico definitivo.
3. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção pelo Vírus da Dengue (I, II, III e IV). Estudos científicos revelam que pessoas infectadas pelo vírus da Dengue podem apresentar uma janela imunológica de 5 a 10 dias para detecção de IgM e IgG, respectivamente. O paciente deve ser novamente avaliado dentro deste período.
4. Resultados de pacientes imunossuprimidos devem ser avaliados com precaução.
5. Como todo teste de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados juntamente com outros dados clínicos do paciente.
6. Se o resultado negativo se mantiver e os sintomas clínicos persistirem, um teste adicional deve ser realizado usando outro método. Um resultado negativo não exclui, a qualquer momento, a possibilidade de infecção pelo vírus da Dengue.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão

Comparação de Métodos, Especificidade Metodológica e Sensibilidade

Para estabelecer a sensibilidade e especificidade do kit Dengue BIO em relação a outro teste de Dengue, 450 amostras clínicas conhecidas foram estudadas. Outro kit qualitativo comercialmente disponível foi usado para comparação com o kit e determinação da sensibilidade relativa e especificidade. A sensibilidade clínica encontrada foi de 96% e a especificidade foi de 95,8%.

Precisão

REPETIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas em 5 amostras distintas, obtendo-se os seguintes resultados:

Amostras	Nº DE REPETIÇÕES	RESULTADO ESPERADO	RESULTADO ENCONTRADO
SANGUE HUMANO 01	20	100% POSITIVO IgG	100% POSITIVO IgG
SANGUE HUMANO 02	20	100% NEGATIVO	100% NEGATIVO
SORO HUMANO 03	20	100% NEGATIVO	100% NEGATIVO
SORO HUMANO 04	20	100% POSITIVO IgM	100% POSITIVO IgM
PLASMA HUMANO 05	20	100% POSITIVO IgM/IgG	100% POSITIVO IgM/IgG

REPRODUTIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens durante 03 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

Amostras	Nº DE DIAS	Nº DE REPETIÇÕES POR DIA	RESULTADO ESPERADO	RESULTADO ENCONTRADO
SANGUE HUMANO 01	03	20	100% NEGATIVO	100% NEGATIVO
SANGUE HUMANO 02	03	20	100% POSITIVO IgM	100% POSITIVO IgM
SORO HUMANO 01	03	20	100% POSITIVO IgM/IgG	100% POSITIVO IgM/IgG
SORO HUMANO 02	03	20	100% NEGATIVO	100% NEGATIVO
PLASMA HUMANO 01	03	20	100% POSITIVO IgM/IgG	100% POSITIVO IgM/IgG

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O vírus da Dengue é um Flavivírus transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*. Está distribuído pelas áreas tropicais e subtropicais do mundo, causando mais de 100 milhões de infecções anualmente. A infecção clássica da Dengue é caracterizada pela febre alta (normalmente entre 38° e 40°C) de início abrupto, mal-estar, anorexia (pouco apetite), cefaléias, dores musculares e nos olhos. Casos de Dengue hemorrágica pode provocar gengivorragias e epistaxis, hemorragias internas e coagulação intravascular disseminada, com danos em vários órgãos, o que pode causar a morte. A infecção primária da dengue causa um aumento de anticorpos IgM após 3 a 5 dias do início da febre. Anticorpos IgM normalmente permanecem na circulação por 30 a 90 dias. Pacientes de regiões endêmicas podem apresentar infecções secundárias, que resultam em níveis elevados de anticorpos IgG, isoladamente ou simultaneamente com uma resposta de IgM. Desta forma, uma detecção específica de anticorpos IgM ou IgG pode ajudar a diferenciar uma primária ou secundária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Halstead SB, Selecting primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6:251-264
2. Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481
3. Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Japanese J. Trop. Med. Hygiene 1994; 22: 9-12
4. Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. Rev. Med. Micro. 1995; 6:39-48
5. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization
6. Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Jul; 10(4): 725-8.
7. Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. Wien Med Wochenschr (in German). 1997; 147(19-20): 463-4
8. Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus infections. Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.
9. Bioclin - Dados de Arquivo.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ASSESSORIA AO CLIENTE

Serviço de Assessoria ao Cliente

Tel.: 0800 031 5454.

E-mail: sac@bioclin.com.br

NÚMERO DE REGISTRO DO KIT DENGUE BIO NA ANVISA: 10269360174

REVISÃO: Março/11