

MS 10310030096

*Imuno-Rápido*

# *DENGUE IgG/IgM*

CÓD. **626010-R**: 10 determinações

CÓD. **626020-R**: 20 determinações

CÓD. **626025-R**: 25 determinações

CÓD. **626040-R**: 40 determinações



## **WAMA Diagnóstica**

Rua Aldo Germano Klein, 100 - CEAT

CEP 13560-971 - São Carlos - SP

Fone (16) 3377.9977 / Fax (16) 3377.9970

[www.wamadiagnostica.com.br](http://www.wamadiagnostica.com.br)

## **IMPORTÂNCIA CLÍNICA**

A Dengue é uma arbovirose causada por um Flavivirus, pertencente à família Flaviviridae, e 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 e podem 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 reinfectados.

Devido à 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 do paciente. Estas informações estão associadas à resposta imune, uma vez que a produção de IgM por volta do 5º ao 8º dia do aparecimento dos sintomas, persistindo, geralmente, por 30 a 60 dias, embora, em alguns casos, podem estar presentes por alguns meses, indica uma infecção recente ou fase aguda da doença. Enquanto que a produção de IgG por volta do 14º dia, podendo persistir por toda a vida, 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 **Imuno-RÁPIDO DENGUE IgG/IgM** da WAMA Diagnóstica é um teste imunocromatográfico, fase sólida, para a detecção qualitativa e diferencial de anticorpos anti-IgG e anti-IgM contra os 4 sorotipos do vírus da Dengue em soro e plasma humano (EDTA, Citrato de sódio e Heparina).

### **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**

**CÓD. 626010-R:** (10 determinações)

1. Placa – Teste: 10 unidades
2. Solução Diluente 1 x 1,2ml
3. Pipeta capilar: 10 unidades
4. Instrução para uso.

**CÓD. 626020-R:** (20 determinações)

1. Placa – Teste: 20 unidades
2. Solução Diluente 1 x 3ml
3. Pipeta capilar: 20 unidades
4. Instrução para uso.

**CÓD. 626025-R:** (25 determinações)

1. Placa – Teste: 25 unidades
2. Solução Diluente 1 x 3ml
3. Pipeta capilar: 25 unidades
4. Instrução para uso.

**CÓD. 626040-R:** (40 determinações)

1. Placa – Teste: 40 unidades
2. Solução Diluente 2 x 3ml
3. Pipeta capilar: 40 unidades
4. Instrução para uso.

### **PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES**

**PLACA TESTE (1):** Pronto para uso. Estável até seu vencimento quando conservado entre 2 - 30°C.

**SOLUÇÃO DILUENTE (2):** Tampão fosfato contém azida sódica 0,1% como conservante.

Pronto para uso. Estável até seu vencimento quando conservado entre 2-30°C.

**PIPETA CAPILAR (3):** Pipeta capilar plástica, volume de 5µl.

**MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO.**

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

**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 longo tempo devem ser mantidas no freezer a -20°C.

**ATENÇÃO:** Se a amostra foi 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 5µl da amostra, para isto utilizar uma micropipeta ou a pipeta capilar (3), no espaço destinado para esta, marcada com "S".

**Obs.:** Quando a pipeta capilar (3) for utilizada, pressionar a pipeta

e depois coloca-lá na amostra, soltando devagar até a amostra atingir a marca. Encostar levemente a pipeta na área marcada com “S” e pressioná-la para dispensar a amostra na membrana.

5. Adicionar 3 gotas (90µl) da solução diluente no orifício destinado para esta.

6. Fazer a leitura dos resultados entre 15 e 20 minutos. Não considerar resultados lidos após 20 minutos.

## **INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

### **NEGATIVO**

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

**POSITIVO para IgM (infecção primária da dengue)**

Aparecerão duas bandas rosa clara, uma na área (M) e outra na área do controle (C).

**POSITIVO para IgG (infecção secundária ou passada da dengue)**

Aparecerão duas bandas rosa clara, 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 rosa clara, uma na área (M), outra na área (G) e outra na área do controle (C).

**Obs.: Qualquer intensidade de cor rosa nas áreas testes deve ser considerada como positivo.**

### **INVÁLIDO**

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

Os resultados devem ser ignorados após o tempo determinado para leitura.

Repetir a análise utilizando uma nova placa-teste.

## VALORES ESPERADOS

O IMUNO-Rápido DENGUE IgG/IgM foi comparado com teste de inibição da hemaglutinação e os resultados desta comparação, seguem abaixo:

### SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

	102 amostras positivas para IgG e IgM		Sensibilidade
	Positivos	Negativos	
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	101	1	$101/102 \times 100\% = 99\%$

  

	200 amostras negativas para IgG e IgM		Especificidade
	Positivos	Negativos	
IMUNO-Rápido Dengue IgG/IgM	4	196	$196/200 \times 100\% = 98\%$

Sensibilidade: 99%

Especificidade: 98%

### PRECISÃO

#### Intra-Ensaio

Dentro da precisão executada, 10 replicas em 4 amostras foram determinadas: uma negativa, uma baixo positiva, uma médio positiva e uma alto positiva. A negativa, a baixo positivo, a médio positivo e a alto positiva foram corretamente identificadas em mais de 99% das vezes.

#### Inter-Ensaio

Entre a precisão executada, 10 ensaios independentes nas mesmas 4 amostras foram determinadas: uma negativa, uma baixo positiva, uma médio positiva e uma alto positiva. Três lotes diferentes do IMUNO-Rápido DENGUE IgG/IgM foram testados por um período de 3 meses usando amostras negativas, baixas

positiva, média positivas e alta positivas. As amostras foram corretamente identificadas em mais de 99% das vezes.

### **LIMITAÇÕES DE USO**

1. O IMUNO-Rápido DENGUE IgG/IgM (Soro e Plasma humanos) é usado somente para diagnóstico “in vitro”. O teste deverá ser usado para detecção de anticorpos anti-dengue somente em amostras de soro e plasma humanos. Nem o valor quantitativo nem a taxa de aumento da concentração de anticorpos anti-dengue podem ser determinados, pois se trata de um teste qualitativo.

2. O IMUNO-Rápido DENGUE IgG/IgM 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.

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 0,1% 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 temperatura ambiente antes de iniciar os testes.
8. Utilizar as Boas Práticas de Laboratório (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.
9. Não substituir componentes deste kit com o de outros fabricantes, nem usar componentes de lotes e códigos diferentes.

## SIMBOLOGIA



O conteúdo é suficiente para ( n ) testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura



Consultar instruções para uso



Produto diagnóstico *in vitro*



Número do lote



Número do catálogo



Proteger do calor

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. WHO 2<sup>o</sup> Edition 1997.
2. 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.
3. 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.

***I EDIÇÃO: Rev. 08/2007***

### **TERMO DE GARANTIA**

A **WAMA Diagnóstica** 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 **WAMA** e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.