

**MÉTODO**

Teste imunocromatográfico

**FINALIDADE**

O Dengue Duo Test Bioeasy é um imunoenensaio qualitativo para a detecção simultânea tanto do antígeno NS1 quanto de anticorpos IgG e IgM da Dengue viral humana em mistura soro, plasma e sangue total.  
Somente para uso diagnóstico IN VITRO.

**FUNDAMENTO**

O lado esquerdo onde está o Teste Rápido Dengue NS1 é um ensaio de um passo, in vitro, imunocromatográfico, designado para a determinação qualitativa do antígeno do vírus da dengue NS1 em soro humano, plasma ou sangue total para diagnóstico de infecção inicial aguda por dengue. Esse dispositivo de teste contém uma membrana ou fita, que é marcada com um antígeno anti-dengue NS1. O NS1 Ag anti-dengue - conjugado de ouro coloidal - e a amostra de soro, ou plasma, ou sangue total movem-se ao longo da membrana cromatograficamente até à região de teste (T) e forma uma linha visível quando se forma o complexo anticorpo- antígeno-anticorpo em partículas douradas.

O lado direito onde está o Teste Rápido Dengue IgG/IgM é um ensaio imunocromatográfico de fase sólida para detecção rápida, qualitativa e diferencial de anticorpos IgG e IgM para o vírus da dengue em soro humano, plasma ou sangue total. Este teste é direcionado para uso profissional para ajudar no diagnóstico preventivo entre infecção por dengue primária e secundária. O Dengue DUO Test Bioeasy proporciona somente um resultado preliminar. Portanto, isolamento do vírus, detecção de antígenos em tecidos fixados, RT-PCR e teste sorológico como inibição de hemaglutinação e métodos de diagnósticos alternativos mais específicos devem ser usados a fim de se obter uma confirmação de infecção por vírus da dengue.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Vírus da Dengue, transmitidos pelos mosquitos *Aedes Aegypti* e *Aedes Albopictus*, são largamente distribuídos por todas as áreas tropicais e subtropicais do mundo. Existem quatro sorotipos distintos conhecidos (vírus da dengue 1, 2, 3 e 4). Em crianças, a infecção é frequentemente sub-clínica ou causa uma doença febril autolimitada. Entretanto, se o paciente é infectado duas vezes com um sorotipo diferente, é mais provável que ocorra uma doença mais severa, dengue hemorrágica ou síndrome de choque do dengue. A Dengue é considerada a mais importante doença viral transmitida por artrópodes devido à incidência em humanos e à mortalidade que causa. NS1 é uma glicoproteína altamente conservada que está presente em altas concentrações no soro de pacientes infectados por dengue. Normalmente, o IgM não se torna detectável em até 5 a 10 dias depois da manifestação da doença em casos de infecção primária por dengue e em até 4 a 5 dias depois da manifestação da doença em infecções secundárias. Em infecções primárias, o IgG aparece no 14º dia e persiste por toda a vida. Infecções secundárias mostram que os IgGs aumentam dentro de 1 a 2 dias depois da manifestação de sintomas e induz resposta do IgM depois de 20 dias de infecção.

**PROPRIEDADES**

Teste simples;  
Detecção precisa;  
Resultados instantâneos.

**IDENTIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO**

Dispositivos de teste selados em uma bolsa de alumínio com dessecante. Pode-se conservar a qualquer temperatura compreendida entre 15 e 30°C (não é recomendável armazenamento em refrigerador). A data de validade está impressa na embalagem.

**CUIDADOS ESPECIAIS**

- Somente para diagnósticos in vitro.
- Não coma ou fume durante a manipulação das amostras.
- Calce luvas de proteção durante a manipulação das amostras. Lave as mãos após o procedimento.
- Evite respingos ou formação de aerossol.
- Descontamine e descarte todas as amostras, kits de reação e materiais potencialmente contaminados, como se fossem lixo contaminado, em um recipiente próprio de lixo infectado.
- Não use o kit de teste se a embalagem estiver danificada ou o selo violado.

**PRECAUÇÕES**

- Para melhores resultados seguir atentamente as instruções de uso.
- Todos as amostras devem ser tratadas como sendo potencialmente infecciosas.
- Abrir a embalagem do dispositivo de teste somente na hora de sua utilização. Execute o teste imediatamente depois de retirar o dispositivo de teste da embalagem.
- Não reutilizar os dispositivos de teste.
- Antes de usá-los, deixar que todos os componentes do Kit e amostras atinjam a temperatura ambiente, pois reagentes e/ou amostras em temperaturas baixas podem reduzir a funcionalidade do teste. Recomenda-se deixar fora de refrigeração de 20 a 30 minutos para atingir a temperatura ambiente.
- Não utilizar o teste após o vencimento indicado na embalagem.
- Não trocar os componentes do Kit com números de lote diferentes.
- O tampão diluente contém baixa concentração de azido de sódio como preservativo. Azido de sódio é tóxico e deve ser manipulado com cuidado para se evitar contato com a pele ou ingestão.
- Os dispositivos de teste são sensíveis a umidade bem como calor.
- O prazo da validade do kit está indicado no exterior da embalagem.

**ESTABILIDADE**

O teste foi desenvolvido para ser conservado em temperaturas entre 15 a 30 °C. Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem, quando conservados nas condições recomendadas. Não congelar o kit, porque pode causar mau funcionamento. Evitar exposições do kit a temperaturas acima de 30 °C (por exemplo, 1 semana a 45 °C reduzirá a vida média do dispositivo de teste em 10 semanas). O Tampão Diluente formará um precipitado branco leitoso quando armazenado em baixas temperaturas. Para dissolver o precipitado, aquecê-lo até temperatura

ambiente antes do uso.

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for conservado nas condições estabelecidas e na sua embalagem original.

**MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS**

Cronômetro.

**AMOSTRA BIOLÓGICA**

- **Sangue Total:** Coletar o sangue total em um tubo de coleta (contendo anticoagulantes como heparina, EDTA e citrato de sódio) por punção arterial. Se a amostra de sangue não for testada imediatamente, deve-se refrigerar entre 2-8°C. Quando conservadas entre 2-8°C a amostra deve ser usada em 3 dias. Para armazenamento por períodos maiores que 3 dias, o congelamento é recomendado. A amostra deve estar a temperatura ambiente na hora da realização do teste. Utilizando amostras de sangue coletadas a mais de 3 dias podem causar reações inespecíficas.

- **Plasma:** Coletar todo o sangue no tubo de coleta (contendo anti-coagulantes como heparina, EDTA e citrato de sódio) por punção arterial e então centrifugue o sangue para obter a amostra de plasma.

- **Soro:** Coletar o sangue no tubo de coleta (NÃO contendo anti-coagulantes) por punção arterial, deixar descansar por 30 minutos para promover a coagulação e então centrifugue o sangue para obter a amostra de soro.

1- Se o plasma ou a amostra de soro não forem testados imediatamente, eles devem ser refrigerados de 2 a 8 °C. Para período de armazenamento maior do que 2 semanas, congelamento é recomendado. Eles devem ser trazidos à temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes do uso.

2- Plasma ou amostras de soro contendo uma precipitação devem render resultados inconsistentes. Tais amostras devem ser clarificadas antes do ensaio.

**PROCEDIMENTO**

Ler o procedimento cuidadosamente por inteiro antes de iniciar o teste.

Mantenha todos os componentes do kit e a amostra à temperatura ambiente antes do teste.

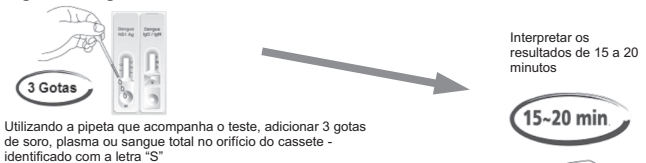
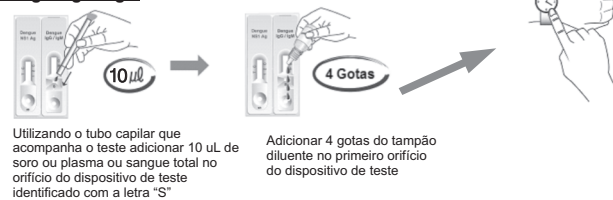
**[Dengue NS1 Ag]**

1. Remova o dispositivo de teste da embalagem de alumínio, e coloque-o em uma superfície seca e plana.
2. Com a pipeta descartável que acompanha o teste adicione 3 gotas de soro, ou plasma, ou sangue total na cavidade de amostra (S).
3. Assim que o teste começar a reagir, será possível observar a cor roxa se mover ao longo da janela de resultados no centro do dispositivo de teste.
4. Interprete resultados do teste em 15 a 20 minutos.

Um resultado reagente não irá mudar depois de estabelecido em 15 a 20 minutos. Entretanto, de modo a prevenir quaisquer resultados incorretos, o resultado de teste não deverá ser interpretado após 20 minutos.

**[Dengue IgG / IgM]**

1. Remova o dispositivo de teste da embalagem de alumínio, coloque-o em uma superfície seca e plana.
2. Com a pipeta capilar de 10 uL que acompanha o teste, adicione 10 uL de soro ou plasma ou sangue total no orifício do cassete marcado com a letra "S".
3. Adicione 4 gotas (cerca de 90 a 120 uL) de diluente para ensaio ao diluente de ensaio de formato redondo.
4. Interprete os resultados do teste em 15 a 20 minutos. Não interpretar após 20 minutos.

**PROCEDIMENTO DE TESTE**
**Dengue Ns1 Ag**

**Dengue IgG / IgM**

**INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**
**- Dengue NS1 Ag:**

**NÃO REAGENTE:** Quando aparecer somente uma linha colorida na janela de resultados - letra "C" (controle) indicado no dispositivo de teste. Esta linha deve aparecer em todos os testes.



**REAGENTE:** Quando aparecer duas linhas coloridas na janela de resultados - letra "C" (controle) e "T" (teste) respectivamente indicado no dispositivo de teste.



Nota:

A intensidade de cor das linhas C e T podem ser diferentes, ou seja, a linha C poderá

ser mais fraca que a linha T ou vice-versa. Considerar o resultado REAGENTE em qualquer situação.  
**INVÁLIDO:** Quando a linha controle (C) não aparecer na janela de resultados dentro de 15 a 20 minutos, o teste deve ser interpretado como inválido. Repetir o teste com um novo dispositivo de teste.



**- Dengue IgG/IgM**

**NÃO REAGENTE:** Quando aparecer somente uma linha colorida na janela de resultados - letra "C" (controle) indicado no dispositivo de teste. Esta linha deve aparecer em todos os testes.



**IgM REAGENTE:** Quando a linha controle (C) e a linha IgM (M) forem visíveis no dispositivo de teste. O teste é reagente para anticorpos IgM para vírus da Dengue. Essa é uma indicativa de infecção primária por dengue.



**IgG REAGENTE:**

Quando a linha de controle (C) e a linha IgG (G) forem visíveis no dispositivo de teste. O teste é reagente para anticorpos IgG. Essa é uma indicativa de infecção por dengue secundária ou passada.



**IgM e IgG REAGENTES:**

Quando as linhas de controle(C), IgM (M) e a linha IgG (G) forem visíveis no dispositivo de teste. O teste é reagente tanto para anticorpos IgM quanto para IgG. Essa é uma indicativa de uma infecção por dengue primária tardia ou secundária inicial.



**INVÁLIDO:** Quando a linha controle (C) não aparecer na janela de resultados dentro de 15 a 20 minutos, o teste deve ser interpretado como inválido. Repetir o teste com um novo dispositivo de teste.



**LIMITAÇÕES**

- Um resultado não reagente pode ocorrer se a quantidade de antígeno do vírus da Dengue NS1 presente na amostra estiver abaixo do limite de detecção do ensaio, ou os antígenos que são detectados não estão presentes durante o estágio da doença em que a amostra é colhida.
- Um resultado de teste não reagente não exclui uma infecção recente.
- A presença de vírus da Dengue NS1 Ag detectável deverá significar reagente para Infecção inicial por Dengue. Como em todos os testes diagnósticos, todos os resultados devem ser considerados juntamente com outras informações clínicas disponíveis.
- Em infecções iniciais e algumas infecções secundárias, níveis detectáveis de anticorpos IgM deverão ser baixos. Alguns pacientes não deverão produzir níveis detectáveis de anticorpos dentro dos primeiros sete a dez dias depois da infecção. Quando os sintomas persistem, os pacientes devem refazer o teste 3 a 4 dias depois da primeira coleta.
- Reação sorológica cruzada com o grupo Flavivirus (Vírus da dengue, encefalite de St. Louis, encefalite japonesa, vírus da febre do Nilo e da febre amarela) é comum.

**VALORES ESPERADOS**

Espera-se detectar o NS1 1 dia após o aparecimento de febre e que o mesmo persista mais de 9 dias tanto em infecções primárias como secundárias. Mas se forem produzidos anticorpos anti-NS1, a detecção de NS1 é inibida. Dengue primária se caracteriza pela presença de IgM detectável em 3 a 5 dias após a manifestação de infecção. Dengue secundária é caracterizada pela elevação de IgG específico em 1 a 2 dias após a manifestação de infecção e na maioria dos casos isso é geralmente acompanhado de uma elevação de IgM.

**DESEMPENHO DO TESTE**

- Sensibilidade e Especificidade Dengue NS1 Ag:  
 As amostras utilizadas neste teste foram confirmados por RT-PCR e/ou Cultura Viral.

		RT-PCR e/ou Cultura Viral		Total
		Reagente	Não reagente	
Dengue Ns1 Ag	Reagente	104	3	107
	Não reagente	8	186	194
	Total	112	189	301

Sensibilidade: 104/112 x 100 = 92,8%  
 Especificidade: 186/189 x 100 = 98,4%

**- Sensibilidade e Especificidade Dengue IgG/IgM:**

Os resultados de comparação do Teste Dengue IgG/IgM Test Bioeasy com teste Inibição de hemaglutinação (HI) mostraram que o Teste Dengue IgG/IgM Test Bioeasy teve uma boa correlação com o teste HI.

		HI Test		Total
		Reagente	Não reagente	
Dengue IgG/IgM	Reagente	159	3	162
	Não reagente	1	39	40
	Total	160	42	202

Sensibilidade: 159/160 x 100 = 99,4%  
 Especificidade: 39/42 x 100 = 93%

- Sensibilidade do Dengue Duo Test Bioeasy relacionada à aparição de sinais clínicos:

	Dias após aparecimento dos sintomas	Número de Amostras	Número de Amostras Reagentes (%)				
			IgG	IgM	Total (*1)	Ns1 Ag	
1st	1~7	52	9 (17.3)	21 (40.4)	23 (44.2)	43 (82.7)	49 (94.3)
	8~14	30	26 (86.7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)
	15~21	36	35 (97.2)	36 (100)	36 (100)	5 (13.9)	36 (100)
2ns	1~7	36	24 (66.7)	8 (22.2)	24 (66.7)	24 (66.7)	32 (88.9)
	8~14	34	34 (100)	18 (53)	34 (100)	14 (41.2)	34 (100)
	15~21	42	42 (100)	24 (57.2)	42 (100)	3 (7.2)	42 (100)

\*1: Dengue IgG e/ou IgM  
 \*2: Dengue Ns1 e/ou IgG e IgM

- Teste de reação cruzada com outras doenças mediadas por Flavivirus e transmitidas por mosquitos.

Doença	Dengue IgM Não reagente/Total	Dengue IgG Não reagente/Total	Dengue Ns1 Ag Não reagente/Total
Encefalite Japonesa	25/25	25/25	25/25
Febre Amarela	25/25	25/25	25/25
Malaria P. falciparum	25/25	25/25	25/25
Malaria P. vivax	25/25	25/25	25/25
<b>Total</b>	<b>100/100</b>	<b>100/100</b>	<b>100/100</b>

- Para avaliar a interferência do kit rápido Dengue Duo com amostras interferentes conhecidas relevantes, as amostras hemolisadas, amostras contendo fatores reumatóides, amostras lipêmicas e ictericas foram investigadas. Nesses estudos, estes espécimes não interferiram nesse kit de teste.

- Sensibilidade analítica: o limite de detecção; a menor quantidade do biomarcador alvo que pode ser precisamente detectada; esteve igual ou superior ao teste rápido de detecção de dengue NS1 e anticorpos que lidera o mercado.

**APRESENTAÇÃO DO KIT**

- Dispositivos de teste Dengue NS1 e IgG/IgM 1x1
- Tampão Diluente para IgG/IgM teste 1 x 3mL
- Pipeta capilar de 10 ul para teste Dengue IgG/IgM - 1x1
- Conta-gotas descartável para teste Dengue NS1 Ag - 1x1
- Instrução de Uso - 1
- Nº de testes: 1, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50 e 100 respectivamente.

**SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE**

Para esclarecimentos de dúvidas do cliente quanto ao produto:  
 Telefax (31) 3048-0008  
 E-mail: bioeasy@bioeasy.com.br  
 Data de Fabricação, Data de Validade, N° do Lote vide rótulo do produto.

**BIBLIOGRAFIA**

- Pryor MJ, Wright Oj. The effects of site-directed mutagenesis on the dimerization and secretion of the NS1 protein specified by dengue virus. *Virology* 1993; 194:768-80.
- SHU, P., HUANG, J. Current advances in dengue diagnosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004 Jul; 11(4):642-50.
- Alcon S., Talamín A., Debryne M., Falconar A., Deubel V., falmann M. 2002. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 non structural preprotein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J. Clin. Microbiol.* 40:376-681.
- 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.

**PRODUZIDO PARA**

Bioeasy Diagnostica Ltda, Rua João Ladeira de Sena, 28. Bairro Estoril. Belo-Horizonte MG. Brasil. CEP: 30.450-500 Telefax: (031) 3048-0008. CGC (MF) 02.719.715/0001-24. Produzido por S.D., Inc. 573-34 Pajang-dong, Jangan-ku, Suwon-si,kyonggi-do, Korea. Autorização do MS 1.03-746.6 Reg. N° MS.10374660111 - Farmacêutico Responsável: Vinicius Silva Pereira CRF-MG 19800

**TERMO DE GARANTIA**

A Bioeasy Diagnóstica Ltda se responsabiliza por este kit diagnóstico, desde que o mesmo esteja com sua integridade física inabalada e dentro do prazo de validade, seguido de comprovação pela assessoria técnica que não houve falhas na execução, manuseio ou conservação deste produto. A Bioeasy Diagnóstica Ltda e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.