

## ECO F Dengue NS1 – FA. 0022



O ECO F Dengue NS1 é um imunoenensaio de fluorescência para a detecção de antígenos NS1 de Dengue em amostras humanas de soro, plasma ou sangue total. Este teste é para uso por profissionais de diagnóstico *in vitro* e destinado a auxiliar o diagnóstico precoce da infecção pelo vírus da Dengue. O teste fornece apenas um resultado de rastreio inicial. O kit ECO F Dengue NS1 deve ser utilizado com o analisador, ECO Reader F.

### Sumário e Explicação do Teste

Os vírus da Dengue, transmitidos pelos mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estão amplamente distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Existem quatro sorotipos distintos conhecidos do vírus da Dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4). Testes rápidos e confiáveis para infecções primárias e secundárias de Dengue são essenciais para o manejo e monitoramento dos pacientes. Uma pessoa infectada apresenta os sintomas agudos da Dengue quando há um alto nível de vírus na corrente sanguínea. À medida que a resposta imune lida com a infecção por Dengue, as células B do paciente começam a produzir anticorpos IgM e IgG que são liberados no sangue e fluido linfático, onde reconhecem e neutralizam o vírus da Dengue e moléculas virais, como a proteína 1 não estrutural da Dengue, o antígeno NS1.

### Princípio do Teste

O ECO F Dengue NS1 baseia-se na tecnologia de imunofluorescência com o analisador ECO Reader F para detectar o antígeno NS1 da Dengue. ECO F Dengue NS1 tem a linha teste pré-revestida com anti-Dengue NS1. Para o teste, a amostra é adicionada diretamente ao poço da amostra e interage com o anticorpo monoclonal anti-Dengue NS1 conjugado com európio na almofada e forma complexo de reação antígeno-anticorpo. Este complexo se move ao longo da membrana até a linha teste cromatograficamente para reagir com o anti-Dengue NS1 na linha teste e emitir sinal de fluorescência. A intensidade da luz de fluorescência gerada na membrana é verificada pelo analisador ECO Reader F. O analisador ECO Reader F pode analisar a presença do analito na amostra, processar os resultados usando algoritmos pré-programados e exibir o resultado

### Reagentes e Materiais Necessários

1. Dispositivo teste.
2. Tampão extrator.
3. Pipeta plástica descartável (100µL).
4. Instrução de uso.

### Materiais que poderão ser requeridos e não são fornecidos

1. Cronômetro.
2. Centrífuga.
3. Agitador (vortex).
4. Analisador ECO Reader F.

### Atenções e Precauções

1. Apenas para uso por profissionais de diagnóstico *in vitro*.
2. Não use o dispositivo teste após a data de validade indicada na embalagem.
3. Não use o teste se a embalagem de alumínio estiver danificada.
4. Não reutilize os testes.
5. Todos os reagentes devem estar na temperatura ambiente antes de iniciar os procedimentos.
6. Não fume, beba ou coma em áreas onde as amostras ou reagentes do kit estejam sendo manuseadas.
7. Limpe completamente os derramamentos usando um desinfetante apropriado.
8. Manuseie todas as amostras como se elas contivessem agentes infecciosos. Observe as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos ao longo do procedimento e siga os procedimentos padronizados para o descarte apropriado das amostras. Vista roupas de proteção como jalecos laboratoriais, luvas descartáveis e óculos de proteção quando estiver analisando as amostras.
9. Observe as precauções estabelecidas contra os riscos microbiológicos ao longo dos procedimentos do teste.
10. Umidade e temperatura podem afetar os resultados de maneira adversa.
11. **ATENÇÃO:** Todas as amostras humanas devem ser consideradas potencialmente infectantes. Recomenda-se que os reagentes e as amostras do paciente sejam tratados de acordo com as normas ou outras diretrizes de segurança de risco biológico ou regulamentos locais apropriados.
12. O código de barras do dispositivo teste é usado pelo analisador para identificar o tipo de teste que está sendo executado e para identificar o dispositivo teste individual de modo a evitar uma segunda leitura do dispositivo pelo mesmo analisador.
13. Use imediatamente o dispositivo teste depois de retirar da embalagem de alumínio.
14. Como o reagente de detecção é um composto fluorescente, nenhum resultado visível será formado no dispositivo teste. Os analisadores ECO Reader F devem ser utilizados para a interpretação dos resultados.
15. A coleta, manuseio ou transporte incorreto das amostras podem produzir resultados imprecisos.
16. Não escreva no código de barras ou danifique o código de barras do dispositivo teste.

### Instrução de Armazenamento e Estabilidade

Armazenar os dispositivos testes em temperatura entre 2 e 30°C até a data de validade indicada na embalagem de alumínio selada. O teste deve permanecer na embalagem selada até o momento do uso. Não congelar. Não armazenar o kit em temperatura superior a 30°C. Deve-se tomar cuidado para proteger os componentes do kit de contaminação. Não usar o kit se tiver evidência de contaminação microbiológica ou precipitação. Contaminação biológica de pipetas, coletores ou reagentes podem levar a falsos resultados.

### Coleta e Manuseio das Amostras

#### Soro:

1. Coletar o sangue total em um tubo comum comercialmente disponível, NÃO contendo anticoagulantes como heparina, EDTA ou citrato de sódio, por punção

venosa e deixar repousar durante 30 minutos para a coagulação do sangue. Centrifugar o sangue para obter a amostra de soro do sobrenadante.

2. As amostras de soro podem ser armazenadas entre 2 e 8°C por até 7 dias após a coleta. Utilizar a amostra armazenada mais de 1 semana nessa temperatura pode causar reação não específica. Para um armazenamento prolongado, as amostras devem estar abaixo de -40°C.

3. As amostras devem ser levadas à temperatura ambiente antes da utilização.

#### Plasma

1. Coletar o sangue venoso total no tubo contendo anticoagulante comercialmente disponível, tal como heparina, EDTA ou citrato de sódio por punção venosa e centrifugar o sangue para se obter a amostra de plasma do sobrenadante.

2. Se o plasma no tubo anticoagulante for armazenado entre 2 e 8°C, a amostra pode ser utilizada dentro de 7 dias após a coleta. Utilizar a amostra armazenada mais de 1 semana nessa temperatura pode causar reação não específica. Para um armazenamento prolongado, as amostras devem estar abaixo de -40°C.

3. As amostras devem ser levadas à temperatura ambiente antes da utilização.

#### Sangue total

##### • Sangue total capilar

1. O sangue total capilar deve ser coletado assepticamente na ponta do dedo.
2. Limpe a área com um algodão e álcool 70%.
3. Aperte a ponta do dedo e perfure com uma lanceta estéril.
4. Coletar o volume preciso de sangue capilar (100µL) até a marcação da linha preta na pipeta plástica descartável.
5. O sangue total capilar deve ser testado imediatamente após a coleta.

##### • Sangue total venoso

1. Colete o sangue total venoso em um tubo comercialmente disponível contendo anticoagulante heparina, EDTA ou citrato de sódio por punção venosa.
2. Recomenda-se a utilização imediata de amostras do sangue total venoso coletado. Se o sangue total no tubo contendo anticoagulante for armazenado entre 2 e 8°C é possível de ser testado dentro de 1 a 2 dias após a coleta.
3. Não utilize amostras de sangue hemolisadas.

- Anticoagulantes como heparina, EDTA ou citrato de sódio não afetam o resultado do teste.
- Interferências relevantes já conhecidas como amostras hemolisadas, lipêmicas, ictericas e contendo fator reumatóide podem prejudicar os resultados do teste.
- Use materiais descartáveis separados para cada amostra, a fim de evitar a contaminação cruzada que pode causar resultados errados.

### Procedimento

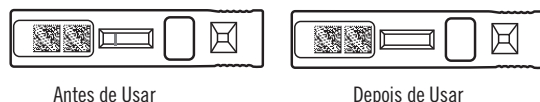
**1º Passo:** Leia sempre a instrução de uso antes da realização do procedimento.

**2º Passo:** Levar a amostra e os componentes do teste para a temperatura ambiente pelo menos 30 minutos antes do teste, se refrigerados.

**3º Passo:** Verifique a data de validade na parte de trás do sachê de alumínio. Use outro lote, se a data de validade tiver expirado.

**4º Passo:** Abra o sachê de alumínio e verifique o dispositivo teste e o pacote de gel de sílica na bolsa de alumínio.

Se uma linha colorida violeta (banda de verificação) não aparecer na janela de resultado do dispositivo teste, não a utilize.



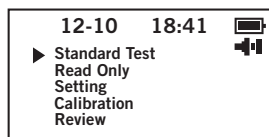
Não escreva no código de barras nem danifique o código de barras do dispositivo teste.

## Análise da amostra

### • Usando um analisador ECO Reader F100

- Modo "Padrão"

1. Prepare um analisador ECO Reader F100 e defina o modo 'Standard Test' de acordo com o manual do analisador.



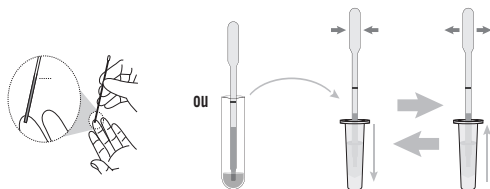
2. Retire o dispositivo teste do sachê de alumínio e coloque-o sobre uma superfície plana e seca.

3. Insira o dispositivo teste no orifício de teste do analisador. O analisador lê automaticamente as informações contidas no código de barras do dispositivo teste e libera o dispositivo teste para adicionar amostra.

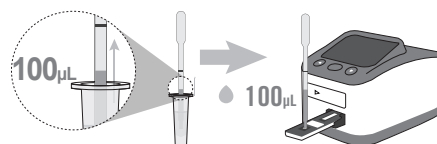


4. Coletar os 100µL de amostra de soro, plasma ou sangue total e colocar a amostra em um tubo tampão extrator com a pipeta plástica descartável.

5. Misture bem a amostra e o tampão extrator do ensaio.



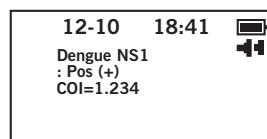
6. Aplique os 100µL da mistura de reação no poço da amostra no dispositivo teste.



7. Depois de aplicar a mistura de reação, pressione imediatamente o botão central para iniciar o teste.



8. O analisador exibirá automaticamente o resultado do teste após 15 minutos. Resultados positivos fortes podem ser observados após 5 minutos.

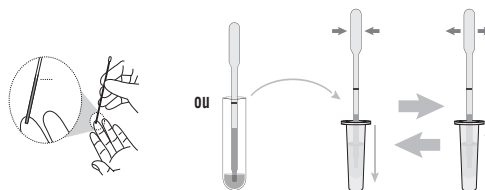


- Modo "Somente leitura"

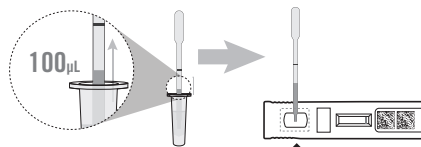
1. Retire o dispositivo teste do sachê de alumínio e coloque-o sobre uma superfície plana e seca.

2. Colete 100µL de soro, plasma ou sangue total e colocar a amostra em um tubo tampão extrator com a pipeta plástica descartável.

3. Misture bem a amostra e o tampão extrator.

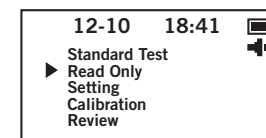


4. Aplique os 100µL da mistura de reação no poço da amostra no dispositivo teste.

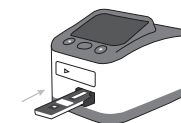


5. Deixe o dispositivo teste por 15 minutos fora do analisador para incubação. Observe que o dispositivo teste não deve ser lido por mais de 20 minutos.

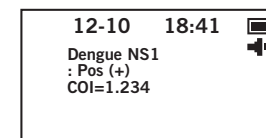
6. Prepare um analisador ECO Reader F100 e configure o modo 'Ready Only' de acordo com o manual do analisador.



7. Quando o tempo de incubação estiver concluído, insira o dispositivo teste no orifício de teste do analisador.



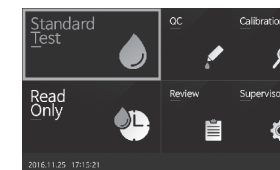
8. O analisador exibirá automaticamente o resultado do teste.



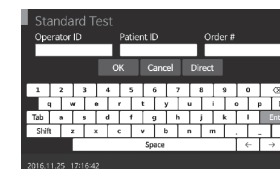
### • Usando um Analisador ECO Reader F200

- Modo "Padrão"

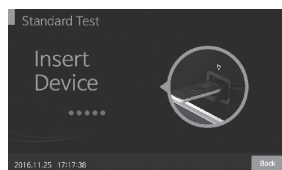
1. Prepare o analisador ECO Reader F200 e selecione o teste 'Teste Padrão' na tela do analisador.



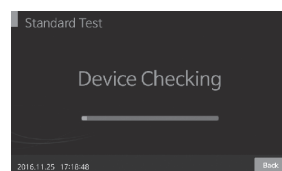
2. Introduza o ID do operador, o ID do paciente e o número da análise. Se o ID do paciente não for inserido no analisador tocando no item 'Direct', o analisador considerará o teste como convidado.



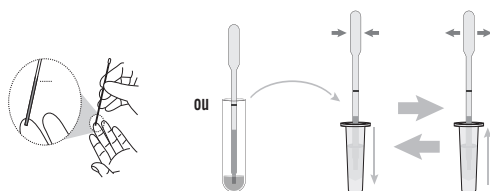
3. Retire o dispositivo teste do sachê de alumínio.
4. Uma vez que o 'Inserir Dispositivo' é exibido na tela, insira o dispositivo teste no orifício de teste do analisador.



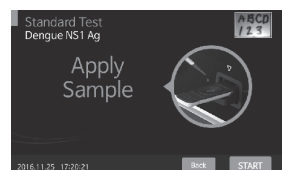
5. Ao inserir o dispositivo teste no analisador, o analisador lê automaticamente as informações contidas no código de barras do dispositivo teste e libera o dispositivo teste para adicionar amostra.



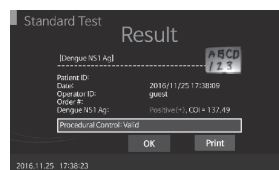
6. Colete 100µL de amostra de soro, plasma ou sangue total e colocar a amostra em um tubo tampão extrator com a pipeta plástica descartável.
7. Misture bem a amostra e o tampão extrator.



8. Aplique os 100µL da mistura de reação no poço da amostra no dispositivo teste.

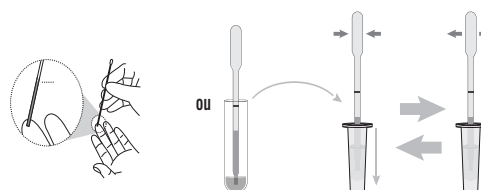


9. Depois de aplicar a mistura de reação, pressione o botão iniciar imediatamente para iniciar o teste.
10. O analisador exibirá automaticamente o resultado do teste após 15 minutos. Resultados positivos fortes podem ser observados após 5 minutos.

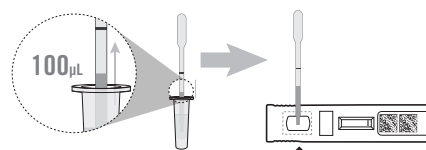


#### - Modo "Somente leitura"

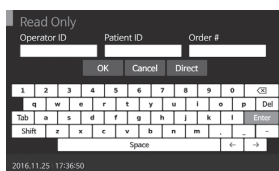
1. Retire o dispositivo teste do sachê de alumínio e coloque-o sobre uma superfície plana e seca.
2. Colete 100µL de soro, plasma ou sangue total e colocar a amostra em um tubo tampão extrator com a pipeta plástica descartável.
3. Misture bem a amostra e o tampão extrator.



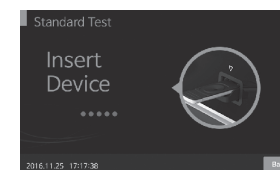
4. Aplique 100µL da mistura de reação no poço da amostra no dispositivo teste.



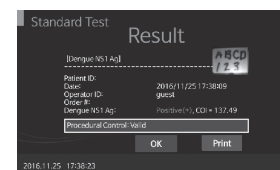
5. Deixe o dispositivo teste por 15 minutos fora do analisador para incubação. Observe que o dispositivo teste não deve ser lido por mais de 20 minutos.
6. Prepare um analisador ECO Reader F200 e configure o modo 'Somente leitura' de acordo com o manual do analisador.
7. Introduza o ID do operador, o ID do paciente e o número da análise. Se o ID do paciente não for inserido no analisador tocando no item 'Direct', o analisador considerará o teste como convidado.



8. Uma vez que o 'Inserir Dispositivo' é exibido na tela, insira o dispositivo teste no orifício de teste do analisador.



9. O analisador exibirá automaticamente o resultado do teste.

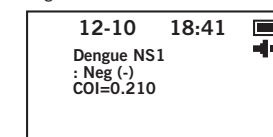


A marca no rótulo entre o poço de amostra e a janela de resultados é digitalizada pelo analisador ECO Reader F200 e exibida na tela.

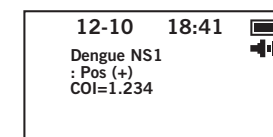
#### Interpretação do Resultado

##### Display do analisador ECO Reader F100

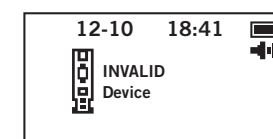
##### Negativo



##### Positivo

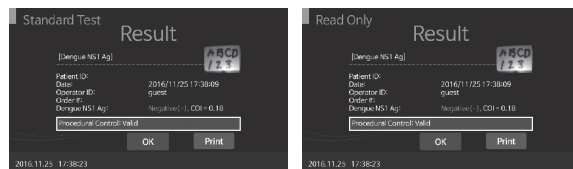


##### Inválido



## Display do analisador ECO Reader F200

### Negativo



### Positivo



### Inválido



- Os resultados devem ser considerados em conjunto com o histórico clínico do paciente e outros dados disponíveis para o médico.

Resultado	Valor de COI (Índice de corte)	Interpretação
Positivo	COI $\geq$ 1.0	Positivo para Dengue NS1 Antígeno
Negativo	COI < 1.0	Negativo para Dengue NS1 Antígeno
Inválido	Não mostra valor de COI	Realizar um novo teste

O resultado do teste é dado como Positivo (+) / Pos (+) ou Negativo (-) / Neg (-) com um valor de COI (índice de corte). O COI é calculado por um sinal medido e dividido por um valor de corte apropriado.

### Controle de Qualidade

#### Processando controle interno

1. A zona de controle interna está na extremidade da membrana do dispositivo teste. Os analisadores ECO Reader F leem o sinal de fluorescência no processo e decidem se o resultado é válido ou inválido.

2. O resultado inválido indica que o sinal de fluorescência não está dentro da faixa pré-definida. Se a tela dos analisadores ECO Reader F mostrar "Dispositivo inválido", desligue e volte a ligar o analisador e refaça o teste com um novo dispositivo teste.

### Desempenho Clínico

Foram usadas 447 amostras biológicas fornecidas por laboratórios clínicos de referência. Os resultados foram comparados com os resultados de um método referência disponível no mercado com as mesmas amostras. As amostras foram consideradas reagentes se os resultados do kit referência fossem reagentes. Amostras foram consideradas não reagentes se os resultados do kit referência fossem não reagentes. A comparação entre os resultados segue abaixo:

Método	Método de referência – ELISA			Resultado Final:
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Reagente	30	2	32
ECO F Dengue NS1	Não reagente	0	415	415
Resultado Final		30	417	447
Sensibilidade: 82%		Especificidade: 100%		

### Limitações do Teste

- O conteúdo deste kit deve ser usado na detecção qualitativa de Dengue NS1 a partir de amostras de soro, plasma ou sangue total dos pacientes sintomáticos.
- O não cumprimento do procedimento do teste ou da coleta inadequada de amostras pode afetar negativamente o desempenho do teste ou invalidar o resultado do teste.
- Para mais precisão do estado imune, recomenda-se testes de seguimento adicionais usando outros métodos laboratoriais.
- Um resultado de teste negativo pode ocorrer se o nível de antígeno em uma amostra estiver abaixo do limite de detecção do teste ou se a amostra foi coletada, transportada ou armazenada incorretamente.
- Os resultados dos testes negativos não descartam outras possíveis infecções.
- Os resultados dos testes positivos não descartam a co-infecção com outros agentes patogênicos.

### Referências

- Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control, World Health Organization, New Edition 2009.
- Kliks SC, Nimmanitya S, Nisalak A, Burke DS, Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants, Am J Trop Med Hyg Jan, 38(2):411-419, 1988.
- Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control, World Health Organization 2nd Edition, 1997.
- Ludolphs D. et al., Serological differentiation of infections with dengue virus serotypes 1 to 4 by using recombinant antigens, J Clin Microbiol, 40(11):4317-4320, 2002.
- Matthew T. R. et al. Dengue virus pirates human platelets, Blood, 126(3):286-287, 2015.
- Guzman M. G. et al. Dengue: A continuing global threat, Nat Rev Microbiol, 8:S7-S16, 2010.

### Fabricante: ECO Diagnóstica LTDA.

Avenida Amarante Ribeiro de Castro, 551, Oliveira – Corinto – MG - CEP: 39.200.000 – CNPJ 14.633.154/0002-06 - Autorização do MS nº 8.09548-8 - Farmacêutico Resp. Técnico: Vinicius Silva Pereira, CRF-MG: 19800 - Tel.: +55 31 36532025. contato@ecodiagnostica.com.br – www.ecodiagnostica.com.br

Reg. MS. 80954880097 | Edição: 001/2019, aprovada em 22/01/2019.