

## Finalidade

O teste laboratorial remoto (TLR) Dengue NS1 Hilab utiliza a metodologia imunocromatográfica para a detecção qualitativa do antígeno NS1 do vírus da dengue em amostras de sangue total, sendo recomendado para pacientes com suspeita de infecção aguda pelo vírus da dengue.

## Sumário

A dengue é uma infecção viral (DENV) transmitida por mosquitos, comum em regiões de clima tropical, que apresenta quatro diferentes sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), podendo ser fatal. A incidência da doença tem crescido e cerca de metade da população mundial está em risco. Estima-se que haja até 400 milhões de infecções anualmente. Os indivíduos infectados podem apresentar um amplo espectro de sintomas, como dores, náusea, vômito, dor abdominal, fadiga, sangramentos, entre outros. Não há tratamento para a infecção, mas os sintomas podem ser controlados. Existe vacina contra a dengue, no entanto, ela é indicada, com segurança, apenas para pessoas que vivem em áreas endêmicas, com idade entre 9 e 45 anos, e que já tiveram a doença<sup>1</sup>.

O diagnóstico laboratorial de dengue pode ser realizado por culturas de células, identificação de ácido nucleico viral ou antígeno ou detecção de anticorpos específicos<sup>2</sup>. Embora os testes laboratoriais existentes possam fornecer o diagnóstico precoce de infecções agudas, o acesso a esses testes é limitado nos países em desenvolvimento. Dos testes diagnósticos disponíveis, o ensaio de transcrição reversa-PCR (RT-PCR) é o mais sensível e específico, considerado padrão-ouro para o diagnóstico de dengue, mas seu uso é restrito em locais com recursos limitados<sup>3</sup>. Os dispositivos *point-of-care testing* (POCT) são geralmente rápidos, econômicos e fáceis de usar, e podem ser usados para o diagnóstico rápido de dengue, de forma remota e com menor custo<sup>4</sup>.

A detecção de antígenos virais da dengue representa uma alternativa para o RT-PCR e a cultura viral. Os antígenos podem ser detectados por imunoenaios utilizando-se anticorpos marcados com ouro coloidal ou técnica similar<sup>5</sup>. O antígeno alvo do teste é a proteína não estrutural 1 (NS1). O antígeno NS1 é produzido durante a replicação viral e pode ser detectado em pacientes com infecções primárias e secundárias por dengue até nove dias após o início dos sintomas<sup>6</sup>. A NS1 é secretada em todas as células infectadas durante a fase aguda da infecção e sua presença no sangue estimula uma forte resposta humoral. A quantificação do NS1 é um indicador de prognóstico para a doença da dengue e níveis mais elevados foram associados à progressão para febre hemorrágica<sup>7</sup>.

O combate ao vírus da dengue é realizado pela redução da população de vetores, educação sobre medidas de proteção e diagnóstico. Infelizmente, esta investigação laboratorial é negligenciada na maioria dos países endêmicos e grande parte dos casos são interpretados como malária<sup>8</sup>. É importante ressaltar que indivíduos, vacinados ou não, devem procurar atendimento médico imediatamente, se apresentarem sintomas de dengue.

## Princípio

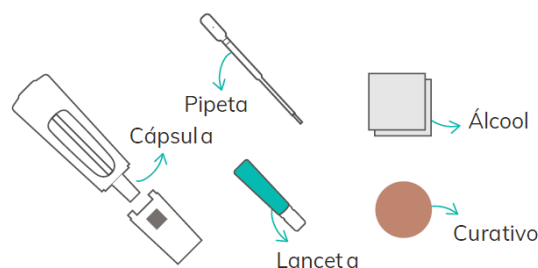
O TLR Dengue NS1 Hilab utiliza o método imunocromatográfico para a detecção qualitativa de antígeno NS1 do vírus da dengue em amostras de sangue total. Neste teste, a membrana é previamente revestida com anticorpos anti-NS1 do vírus da dengue na região da linha teste. Durante o procedimento, os antígenos NS1 do vírus da dengue presentes na amostra ligam-se a partículas conjugadas com anticorpos anti-NS1 do vírus da dengue. Esse complexo antígeno-anticorpo percorre a membrana por capilaridade e se liga aos anticorpos fixados na membrana, formando uma

linha colorida na região inferior da cápsula. Um reagente controle imobilizado na parte superior da membrana do teste da cápsula determinará o surgimento de uma segunda linha colorida na região do controle, indicando que os reagentes e a reação ocorreram corretamente. A linha de controle deve sempre aparecer quando o teste é realizado adequadamente, independentemente da presença ou ausência de antígenos NS1 na amostra.

## Conteúdo

Os componentes do kit encontram-se protegidos em uma embalagem aluminizada, contendo um dessecante (sílica).

1. Cápsula Dengue NS1 Hilab
2. Tampa da cápsula
3. Pipeta descartável
4. Lanceta
5. Lenço de álcool
6. Curativo



### Materiais necessários não fornecidos:

- Gaze ou algodão para limpeza e estancamento da punção digital
- Luvas descartáveis e outros EPIs
- Leitor de exames Hilab

**A cápsula é formada por:** uma embalagem plástica e uma tira reagente interna. A tira reagente é composta por uma membrana porosa (*pad*) onde a amostra é depositada, uma membrana de nitrocelulose que contém anticorpos anti-NS1 do vírus da dengue fixados (parte inferior da cápsula), partículas conjugadas com anticorpos anti-NS1 do vírus da dengue e reagente controle imobilizado na parte superior da cápsula.

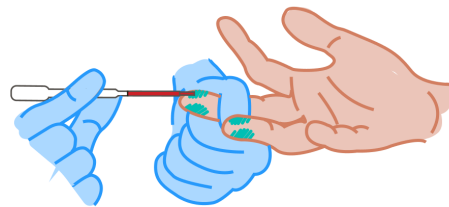
## Armazenamento e Estabilidade

Armazenar a cápsula entre 4 – 30°C durante o seu período de validade. Utilizar a cápsula imediatamente após a abertura da embalagem aluminizada.

## Precauções

- Uso exclusivo para diagnóstico *in vitro*.
- Não utilizar o produto além de seu prazo de validade.
- Exclusivo para uso profissional.
- Deve-se evitar expor o kit a altas temperaturas, bem como diretamente ao sol.
- Não abrir a embalagem aluminizada até estar pronto para a realização do teste.

- Não reutilizar a cápsula após o término do exame.
- Não reutilizar a pipeta descartável.
- Não reutilizar a lanceta.
- Manipular todas as amostras como sendo potencialmente infecciosas. A manipulação e métodos de descarte apropriados devem ser seguidos de acordo com os regulamentos locais.
- Descartar a cápsula utilizada em local para materiais potencialmente infectantes e a lanceta e pipeta no descarte de perfurocortantes.
- Ler e seguir cuidadosamente as instruções de uso para assegurar um desempenho apropriado.
- Utilizar as Boas Práticas de Laboratório (BPLs) na conservação, manuseio e descarte de materiais.



**IMPORTANTE:** Ao segurar a pipeta, não bloqueie o pequeno o furo que fica no meio do bulbo central da pipeta. Ao coletar a amostra, não posicione a pipeta em uma angulação maior que 90° (horizontal) para evitar a entrada de bolhas de ar.

## Coleta e preparação das amostras

1. O teste deve ser realizado com sangue humano; outro tipo de amostra ou fluidos corporais podem levar a resultados imprecisos.
2. Amostras obtidas por punção digital devem ser utilizadas imediatamente.

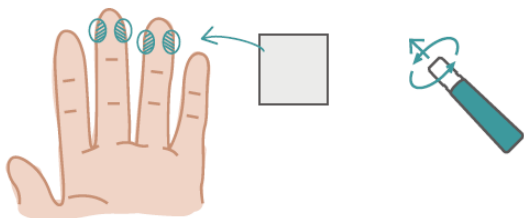
## Procedimento do teste

### PREPARO

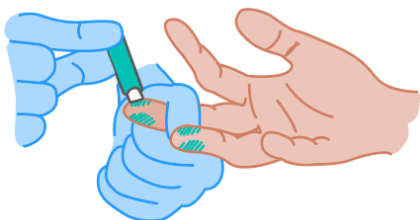
1. A cápsula e a amostra devem atingir a temperatura ambiente antes da realização do teste.
2. Remova a cápsula da embalagem aluminizada termoselada antes do uso.
3. Coloque a cápsula em uma superfície plana e limpa.
4. Confira os materiais dentro do kit de acordo com o tópico "Conteúdo".

### PUNÇÃO DIGITAL

5. Escolha o dedo médio ou anelar e faça a assepsia com o lenço de álcool e deixe secar.
6. Gire e remova a tampa da lanceta.



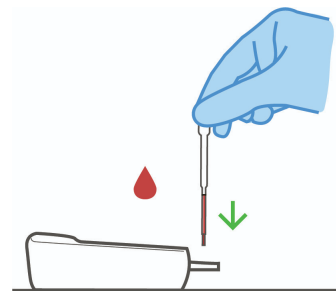
7. Segure o dedo do paciente com seus dedos formando um garrote, mantenha pressionado por 10 segundos.
8. Ainda segurando o dedo em garrote, com a outra mão, posicione a lanceta na lateral do bulbo digital.



**IMPORTANTE:** Não punção o mesmo dedo mais de uma vez.

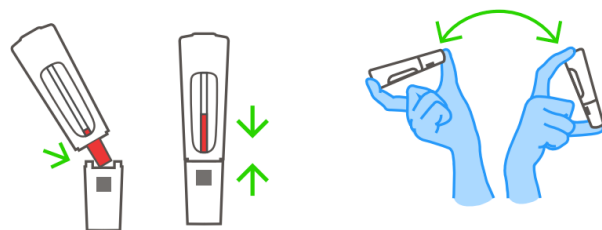
9. Limpe a primeira gota de sangue com algodão ou gaze.
10. Segure a pipeta na horizontal e encoste a ponta da pipeta na gota de sangue acumulado. Espere o sangue subir por capilaridade até atingir a linha de marcação da pipeta.

11. Dispense o sangue total na região de amostra da cápsula. Depois de completar o procedimento de coleta, entregue algodão ou gaze ao paciente para estancar o local da punção.



### TESTE

12. Dê leves batidinhas na tampa da cápsula sobre uma superfície, para que o tampão se concentre no fundo.
13. Feche a cápsula verticalmente (unindo a cápsula com a tampa) com firmeza.
14. Com a cápsula devidamente fechada, inverta-a algumas vezes, homogeneizando delicadamente.



15. Espere a reação começar, insira a cápsula no leitor, limpe o local da punção e aplique o curativo no dedo do paciente.
16. Após inserir a cápsula no Leitor Hilab o exame é enviado pela internet ao Laboratório Central onde é analisado e o laudo gerado. Acompanhe o status na plataforma Hilab (aplicativo ou web).

### NOTAS:

- Seguir instruções de uso do aplicativo do leitor Hilab ou do Portal do Especialista.
- Aguardar 20 minutos para a obtenção do resultado que será enviado pelo Laboratório Central.

## Interpretação dos Resultados

**Reagente:** Aparecem duas linhas coloridas. Uma linha apresentando o controle (região superior) e uma linha na região teste (parte inferior da tira). Esse resultado indica a presença de antígenos NS1 na amostra analisada.

**Não reagente:** Uma linha colorida aparece na região de controle (região superior). Nenhuma linha colorida aparente aparece na região de teste.

(parte inferior). Esse resultado indica a ausência de antígenos NS1 na amostra analisada.

**Nova Coleta:** Será necessária nova coleta quando a linha de controle não aparecer na tira reagente. Neste caso, o volume de amostra foi insuficiente ou o procedimento técnico foi incorretamente realizado, sendo estas as razões mais prováveis para que não apareça a linha controle. Além do não aparecimento da linha de controle, outros motivos podem levar à solicitação de uma nova coleta. Se oriente pelo card explicativo para saber a razão, reveja o procedimento e repita o teste com um novo kit.

## Faixa de Valores Esperados

O resultado esperado é “Não Reagente” para a presença de antígeno NS1 do vírus da Dengue em pacientes que não estão infectados pelo o vírus da dengue.

## Características de Desempenho

A sensibilidade relativa de um teste diagnóstico é a probabilidade de um paciente acometido pela doença ter seu resultado corretamente identificado como positivo ou alterado. A especificidade relativa de um teste diagnóstico é a probabilidade de um indivíduo saudável ter seu resultado corretamente identificado como negativo ou normal. Quanto mais próximo de 100% a Sensibilidade Relativa e a Especificidade Relativa de um teste se encontra, menores as chances do resultado avaliado ser um falso-positivo ou um falso-negativo.

O TLR Dengue NS1 Hilab foi comparado com um teste comercial de imunoensaio enzimático (EIA) para Dengue NS1, utilizando amostras clínicas. Os resultados mostram que a sensibilidade relativa do TLR Dengue NS1 Hilab é de 95,8% e a especificidade relativa é de 96,1%. Os dados obtidos foram:

| MATRIZ DE CONFUSÃO         |            |          |          |            |
|----------------------------|------------|----------|----------|------------|
| Método                     | EIA        |          |          |            |
| TLR<br>Dengue<br>NS1 Hilab | Resultados | Positivo | Negativo | Resultados |
|                            | Positivo   | 137      | 8        | 145        |
|                            | Negativo   | 6        | 200      | 206        |
| Resultados                 |            | 143      | 208      | 351        |

Sensibilidade relativa: 95,8% (\*IC 95%: 91,1%-98,4%)  
Especificidade relativa: 96,1% (\*IC 95%: 92,6%-98,4%)  
Acurácia: 96,0% (\*IC 95%: 93,4%-97,8%)  
\*Intervalo de confiança

## Interferentes

Potenciais interferentes do teste foram adicionados a três níveis de controles de amostras para dengue NS1, em diferentes concentrações, com leitura de resultado após dez minutos. Foram testados três lotes, em triplicatas. Nenhuma das substâncias avaliadas apresentou interferência nos resultados do teste. O painel com as substâncias e concentrações são mostrados na a seguir:

| Substância      | Concentração | Substância       | Concentração |
|-----------------|--------------|------------------|--------------|
| Ácido ascórbico | 2000 mg/dL   | Acetaminofeno    | 20 mg/dL     |
| Hemoglobina     | 1000 mg/dL   | Acetilsalicílico | 20 mg/dL     |
| Ácido Gentísico | 20 mg/dL     | Cafeína          | 20 mg/dL     |

|               |            |            |            |
|---------------|------------|------------|------------|
| Ácido Oxálico | 60 mg/dL   | Creatinina | 200 mg/dL  |
| Bilirrubina   | 1000 mg/dL | Albumina   | 2000 mg/dL |

## Reatividade Cruzada

O TLR Dengue NS1 foi testado com amostras negativas para dengue NS1 e positivas para: HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, sífilis, HIV, HCV, H. pylori, HAMA, fator reumatoide, MONO, CMV, rubéola e TOXO. Nenhuma das amostras apresentou reação cruzada.

| Amostras |                  |
|----------|------------------|
| HBsAg    | HIV              |
| HBsAb    | HCV              |
| HBeAg    | H. pylori        |
| HBeAb    | HAMA             |
| HBcAb    | Fator Reumatóide |
| Sífilis  | MONO             |
| CMV      | TOXO             |
| Rubéola  |                  |

## Limitações

1. O TLR Dengue NS1 Hilab é um teste para uso diagnóstico *in vitro* apenas.
2. Resultados alterados deverão sempre ser confirmados por outra metodologia.
3. Um resultado não reagente pode ocorrer se a quantidade de antígeno NS1 do vírus da dengue presente na amostra coletada estiver abaixo dos limites de detecção do exame, ou se o antígeno NS1 não estiver presente durante o estágio da doença em que a amostra foi coletada.
4. Algumas amostras contendo concentrações muito altas de anticorpos heterófilos ou fator reumatóide podem interferir no resultado.
5. A detecção do antígeno NS1 do vírus da dengue pode ocorrer entre 1 e 5 dias depois do início dos sintomas. Após esse período, é indicada a realização do exame sorológico para pesquisa de anticorpos IgG e IgM contra o vírus da dengue.
6. Em caso de infecção secundária, o antígeno NS1 pode não ser detectado devido à possibilidade de menor viremia.
7. Existe a possibilidade de reação cruzada com outros flavivírus (Zika, Febre do Nilo e Febre amarela) e Chikungunya, por isso é importante estar atento aos sinais e sintomas da doença.
8. Como qualquer procedimento diagnóstico, o resultado deste teste deve ser interpretado por um médico junto a análise da clínica do paciente e, se preciso, exames complementares.

## Referências Bibliográficas

1. WHO. Dengue and severe dengue. 2021.
2. Vorndam, V.; Kuno, G. In Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever (Gubler, D. J. & Kuno, G., eds), 313-333 (CAB International, New York, USA, 1997).
3. Wang, WK., Gubler, DJ. Potential Point-of-care Testing for Dengue Virus in the Field. Journal of Clinical Microbiology. 2018, 56(5).
4. Choi, JR. et al. Paper-based point-of-care testing for diagnosis of dengue infections. Critical Reviews in Biotechnology. 2017, 37(1): 100-111.
5. Peeling, R. et al. Evaluation of diagnostic tests: dengue. Nat Rev Microbiol. 2010, 8, S30-S37.

6. Dussart, P. et al. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. Clin Vaccine Immunol. 2006, 13: 1185-1189.
7. Libraty, DH. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. J Infect Dis. 2002, 186: 1165-1168.
8. Ayukekbong, JA. et al. Value of routine dengue diagnosis in endemic countries. World J Virol. 2017, 6(1): 9-16.

## DESCRIÇÃO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS

Os símbolos gráficos a seguir são utilizados ou encontrados no TLR Dengue NS1 são os mais comuns que estão nos dispositivos médicos e suas embalagens. São explicados com maiores detalhes na Norma European Standard EN 980:2008 e na ISO 15223-1:2008.

| Tabela de Símbolos  |                                   |   |  |
|---|-----------------------------------|---|--|
|    | Fabricante                        |    | Data de validade                               |
|    | Data de Fabricação                |    | Lote   |
|    | y: Quantidade de testes           |    | Não reutilizar                                 |
|    | Manter afastado da luz solar      |    | Consultar as instruções de Uso                 |
|   | Limites de temperatura            |   | Proteger de umidade                            |
|  | Produto para diagnóstico In Vitro |  | Não utilizar se a embalagem estiver danificada |

Favor ler estas instruções de uso cuidadosamente antes de abrir de modo a assegurar um uso correto.

Bula 01100401 - Revisão 06 | Agosto/2022

Data de fabricação, vencimento e nº de lote: VIDE EMBALAGEM

### FABRICANTE LEGAL:

#### HI TECHNOLOGIES LTDA.

Rua Eduardo Sprada, 6400 – Cidade Industrial

CEP. 81.290-110 – Curitiba – PR

BRASIL

CNPJ 07.111.023/0001-12

Responsável Técnico – Dr. Caio Corsi Klosovski – CRBM 6ª. Região 420

Assistência Técnica (Serviço de Atendimento ao Consumidor):

Telefone: 41 3022-3291 / Fax: 41 3346-2056