

Infection

AFIAS

Dengue NS1 Ag

USO PRETENDIDO

AFIAS Dengue NS1 Ag é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para determinação qualitativa de Antígeno NS1 em sangue total/soro/plasma humano durante a infecção pelo vírus da dengue. Este teste é útil na triagem precoce da infecção pelo vírus da Dengue.

Uso somente para diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A Proteína Não-Estrutural 1 (NS1), uma das proteínas não estruturais do vírus da dengue, possui o papel de auxiliar o complexo de replicação e atenuar a resposta imune do hospedeiro à infecção viral.¹⁾ Muitas linhas de evidências mostram que o nível plasmático de NS1 secretada (SNS1) está correlacionado aos níveis de viremia em pacientes infectados pelo vírus da dengue. Quanto maior a evolução da infecção pelo vírus da dengue, maior concentração de SNS1 após o início da doença.^{2,3)} A quantidade de SNS1 diminui conforme ocorre redução do nível viral plasmático. Portanto, é coerente detectar os níveis de SNS1 no sangue do paciente, o que possibilita o diagnóstico precoce da infecção pelo vírus da dengue.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção do tipo sanduíche por fluorescência do Európio.

Os antígenos detectores presentes no tampão se ligam aos anticorpos presentes na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo que migram para a matriz de nitrocelulose para serem capturados pelos anticorpos imobilizados na tira de teste.

Quanto mais antígenos estiverem presentes na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo serão formados, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência pelos anticorpos detectores, o qual é processado no instrumento para testes AFIAS que apresenta o resultado como ‘Dengue NS1 Ag positivo’ na amostra.

COMPONENTES

AFIAS Dengue NS1 Ag consiste em ‘Cartuchos’.

- Cada embalagem de alumínio selada contém dois cartuchos.
- Cada cartucho embalado em um invólucro de alumínio possui três componentes incluindo uma parte do cartucho, uma parte do detector e uma parte do diluente.
- A parte do cartucho contém uma membrana chamada tira teste, que possui anti-NS1 da dengue nas linhas de teste, e IgY de galinha na linha controle.
- A parte do detector possui 2 grânulos contendo conjugado fluorescente anti-dengue-NS1, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha e albumina de soro bovina (BSA) como estabilizador.
- A parte diluente contém um detergente como estabilizador e azida sódica em fosfato de potássio como conservante.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

- Siga cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nestas ‘Instruções de uso’.
- Use somente amostras frescas e evite exposição direta à luz do sol.
- Os números de lotes de todos os componentes do teste (cartuchos e ID Chip) devem ser correspondentes.
- Não misture materiais de diferentes lotes do produto ou use o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos, resultados incorretos poderão ocorrer.
- Não reutilize cartuchos. Um cartucho deve ser usado para testar apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer selado em sua embalagem original até o momento do uso. Não usar um cartucho se a embalagem estiver danificada ou já tiver sido aberta.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas apenas uma vez. Para transporte, as amostras devem ser embaladas de acordo com os regulamentos locais. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidemia não devem ser utilizadas.
- Se os componentes do teste e/ou a amostra forem armazenados sob refrigeração, deve-se deixar o cartucho e a amostra em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.
- O instrumento para testes AFIAS pode vibrar levemente durante o uso.
- Os cartuchos, C-tips e ponteiros utilizados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados de forma apropriada, de acordo com as regulamentações locais pertinentes.
- O cartucho contém azida sódica (NaN₃) e pode causar certos problemas de saúde, como convulsões, baixa pressão arterial, baixa frequência cardíaca, perda de consciência, lesão pulmonar e insuficiência respiratória. Evite contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, enxágue imediatamente com água corrente.
- **AFIAS Dengue NS1 Ag** fornecerá resultados precisos e confiáveis se sujeitos às condições abaixo.
 - **AFIAS Dengue NS1 Ag** deve ser utilizado somente em conjunto com o instrumento para testes AFIAS.
 - Deve ser utilizado com anticoagulantes recomendados.

Anticoagulantes recomendados
Na-EDTA, K ₂ EDTA, Heparina sódica, Heparina de lítio, Citrato de sódio
- **O modo C-tip deve ser usado quando as seguintes condições forem atendidas:**
 - O uso da C-tip fornecida junto ao kit é recomendado para a obtenção de resultados corretos.
 - O sangue total deve ser imediatamente testado após a coleta.
 - O excesso de sangue ao redor da C-tip deve ser limpo.
 - Para evitar contaminação cruzada, não reutilize a ponteira C-tip para várias amostras.
 - O cartucho AFIAS deve ser inserido e posicionado na entrada de cartuchos no equipamento antes da coleta da amostra de sangue.
 - Ao coletar o sangue, tenha cuidado para não criar bolhas de ar na C-tip.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado(s) falso-positivo devido à reação cruzada e/ou adesão não-específica de certos componentes da amostra aos anticorpos detectores/captura.
- O teste pode apresentar resultado(s) falso-negativo. A não-responsividade do antígeno aos anticorpos é mais comum onde o epítipo é mascarado por algum componente

desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com o tempo e/ou temperatura pode levar ao resultado falso-negativo, uma vez que se torna irreconhecível pelos anticorpos.

- Outros fatores podem interferir no teste e levar a resultados errôneos, tais como erros de procedimento/técnico, degradação dos componentes do teste/reagentes ou presença de substâncias interferentes nas amostras-teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser suportado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condições de armazenagem			
Componente	Temperatura	Validade	Observação
Cartucho	2 - 30°C	20 meses	Fechado
		1 mês	Aberto

- Coloque o cartucho não utilizado na embalagem zipperbag para cartucho sobressalente contendo dessecante. Sele novamente através do zíper presente na borda.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS Dengue NS1 Ag**

- Caixa do cartucho:
 - Cartuchos 24
 - Ponteiros (Zipperbag) 24
 - C-Tip (30µL, Zipperbag) 24
 - ID Chip 1
 - Instruções de Uso 1
 - Zipperbag para Cartucho Sobressalente 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, FORNECIDOS SOB DEMANDA

Os itens a seguir podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS Dengue NS1 Ag**.

Por favor, entre em contato com **BIOSYS LTDA.** para maiores informações.

- **Instrumentos para testes AFIAS**
 - **AFIAS-1**
 - **AFIAS-3**
 - **AFIAS-6**
 - **AFIAS-10**
- **Boditech Dengue NS1 Ag Control**

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os tipos de amostras utilizadas com o kit **AFIAS Dengue NS1 Ag** são plasma/soro/sangue total humano.

- Recomenda-se testar a amostra em até 24h após a coleta quando a amostra for armazenada em temperatura ambiente.
- As amostras (soro, plasma) devem ser separadas do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após coleta do sangue total.
- As amostras (sangue total, soro, plasma) podem ser armazenadas por uma semana a 2-8 °C antes de serem testadas. Se os testes forem adiados por mais de uma semana, as amostras (soro, plasma) devem ser congeladas a -20 °C.
- As amostras (soro, plasma) congeladas a -20 °C durante 8 meses não mostraram diferença de desempenho.
- No entanto, amostras de sangue total não devem ser congeladas em nenhum caso.
- Uma vez que ciclos repetidos de congelamento e descongelamento podem afetar o resultado dos testes, não congele novamente amostras previamente congeladas.

- Coleta de amostra de sangue total usando C-tip:
 - ① Segure a ponta da C-tip horizontalmente e toque na superfície do sangue com a C-tip.
 - ② A ação da capilaridade irá automaticamente retirar a amostra de sangue para a ponta da C-tip e parar.
 - ③ Limpe o excesso de sangue ao redor da ponteira.
 - ④ Verifique duas vezes se o sangue total está preenchido corretamente na C-tip e se o equipamento AFIAS está pronto para uso no ‘Modo C-tip’.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS Dengue NS1 Ag** conforme descrito: Cartuchos, ponteiros, C-tips, ID chip, embalagem zipperbag para cartucho sobressalente e instruções de uso.
- Confira se o lote do cartucho é o mesmo do lote do ID Chip.
- Se o cartucho selado tiver sido armazenado na geladeira, coloque-o em uma superfície plana à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste.
- Ligue o instrumento para testes AFIAS.
- Esvazie a caixa de ponteiros.
- Insira o ID chip na porta para ID Chip.
- ✳ Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes AFIAS para obter informação completa e instruções de operação.

PROCEDIMENTO DO TESTE

► **AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6**

Modo Geral (soro/plasma)

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Insira a ponteira no orifício para ponteiros no cartucho.
- 3) Selecione ‘Modo Geral’ no instrumento para testes AFIAS.
- 4) Pipete 200 µL de amostra (soro/plasma/controle) e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- 5) Selecione o tipo de amostra (soro/plasma) na tela.
- 6) Aperte o botão 'Start' na tela.
- 7) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo C-tip (sangue total)

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Pegue 30 µL de sangue total usando a C-tip.
- 3) Insira a C-tip preenchida com sangue total no orifício para ponteiros no cartucho.
- 4) Selecione ‘Modo C-tip’ no instrumento para testes AFIAS.
- 5) Aperte o botão 'Start' na tela.
- 6) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

► **AFIAS-10**

Modo Normal (soro/plasma)

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Insira a ponteira no orifício para ponteiros no cartucho.
- 3) Selecione o botão ‘Carregar’ na estação que contém o cartucho com a ponteira para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- 4) Insira o tubo de amostra na estante para tubos.
- 5) Insira a estante para tubos na parte de carregamento da estação de amostras.
- 6) Selecione o tipo de amostra (soro/plasma) na tela.
- 7) Aperte o botão 'Start' na tela.
- 8) O resultado será exibido na tela após 12 minutos.

Modo de Emergência – Ponteira Geral (soro/plasma)

- 1) O procedimento do teste é o mesmo do ‘Modo Normal 1)

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*



- 3)'.
2) Passe para o ‘Modo de Emergência’ no AFIAS-10.
3) Selecione o tipo de ponteira (ponteira geral) na tela.
4) Selecione o tipo de amostra (soro/plasma) na tela.
5) Pipete 200 µL de amostra e dispense no poço de amostra no cartucho.
6) Aperte o botão 'Start' na tela.
7) O resultado será exibido na tela após 12 minutos.

- Modo de Emergência – C-tip (sangue total)
1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
2) Pegue 30 µL de sangue total usando uma C-tip.
3) Insira a C-tip contendo a amostra no orifício para ponteiras no cartucho.
4) Selecione o botão ‘Carregar’ na estação que contém o cartucho com a ponteira para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
5) Passe para o ‘Modo de Emergência’ no AFIAS-10.
6) Selecione o tipo de ponteira (C-tip) na tela.
7) Aperte o botão 'Start' na tela.
8) O resultado será exibido na tela após 12 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes AFIAS calcula o resultado do teste automaticamente e exibe “Positivo / Negativo / Indeterminado”.

O valor auxiliar é fornecido na forma de um índice de cut-off (COI).

Índice Cut-off (COI)	Resultado	Observação
≥ 1,1	Positivo para Dengue NS1 Ag	Necessidade de teste de confirmação.
≥ 0,9 , < 1,1	Indeterminado	Necessidade de retestagem. Se os resultados do teste forem ‘Negativo’ ou ‘Indeterminado’ repetidamente, as amostras são consideradas negativas para o antígeno NS1 da dengue.
< 0,9	Negativo para Dengue NS1 Ag	Sem a necessidade de teste adicional.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.

Os testes de controle de qualidade também devem ser realizados sempre que houver qualquer dúvida sobre a validade dos resultados dos testes.

Os controles do kit **AFIAS Dengue NS1 Ag** são fornecidos sob demanda. Para maiores informações sobre a obtenção do material de controle, entre em contato com o setor comercial da **BioSys**.
(Por favor, consulte as instruções de uso do kit do material controle.)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- Sensibilidade Analítica

- Limite de Detecção (LOD)
O LOD do kit **AFIAS Dengue NS1 Ag** foi determinado a partir de um antígeno recombinante NS1 da Dengue. O LoD foi de 50 ng/mL em 20 testes repetitivos.

- Cut-off

O resultado de teste do **AFIAS Dengue NS1 Ag** indica ‘Positivo’ ou ‘Negativo’ para a amostra a partir do algoritmo do analisador AFIAS, baseado em COI (índice cut-off).

Índice Cut-off (COI)	Resultado
COI ≥ 1,1	Positivo para Dengue NS1 Ag
0,9 ≤ COI < 1,1	Indeterminado
COI < 0,9	Negativo para Dengue NS1 Ag

- Especificidade Analítica

- Reatividade Cruzada
Não houve reatividade cruzada significativa com 36 vírus e bactérias com **AFIAS Dengue NS1 Ag**.

N°	Material de reatividade cruzada	Concentração
1	Vírus da Influenza A (A/Kansas/14/2017)	1,4 x 10 ⁶ PFU/mL
2	Vírus da Influenza b (B/Phuket/3073/201)	7,6 x 10 ⁶ PFU/mL
3	Vírus sincicial respiratório A2	8,5 x 10 ⁵ PFU/mL
4	Vírus sincicial respiratório B	2 x 10 ⁶ PFU/mL
5	Rinovírus Humano B – Tipo 14	6 x 10 ⁸ PFU/mL
6	Metapneumovírus Humano-9- Tipo A1 (IA3-2002)	1,17 X 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
7	Enterovírus Humano A Tipo 71	4,5 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
8	Vírus da Parainfluenza Tipo 2	1,51 X 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
9	Vírus da Parainfluenza Tipo 3	4,57 X 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
10	Vírus da Parainfluenza Tipo 4B	1,70 X 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
11	Virus da encefalite japonesa	2,4 x 10 ⁵ PFU /mL
12	Citomegalovírus humano	6 x 10 ⁷ PFU /mL
13	Vírus do sarampo	1 x 10 ⁶ PFU /mL
14	Vírus da caxumba	3 x 10 ⁷ PFU /mL
15	Adenovírus Tipo 1	4,0 X 10 ¹⁰ TCID ₅₀ /mL
16	Adenovírus Tipo 2	1 X 10 ^{6,8} TCID ₅₀ /mL
17	Adenovírus Tipo 3	1 x 10 ^{4,3} pfu/mL
18	Coxsackievírus A2	1 X 10 ⁸ TCID ₅₀ /mL
19	Coxsackievírus A4	1 X 10 ^{5,7} TCID ₅₀ /mL
20	Coxsackievírus B1 - conn5	8,7 X 10 ⁷ CCID ₅₀ /mL
21	Coxsackievírus B3 – nancy (SA1)	2,3 X 10 ⁻⁸ CCID ₅₀ /mL
22	Rinovírus - RV21	5,6 X 10 ⁴ CCID ₅₀ /mL
23	Pseudomonas aeruginosa	1 x 10 ⁶ CFU/mL
24	Staphylococcus aureus	1 x 10 ⁶ CFU/mL
25	Streptococcus pyogenes	6 x 10 ⁸ CFU/mL
26	Haemophilus influenzae	1 x 10 ⁶ CFU/mL
27	Corynebacterium diphteria	1 x 10 ⁶ CFU/mL
28	Legionella pneumophila	1,6 x 10 ⁷ CFU/mL
29	Streptococcus pneumoniae	6 x 10 ⁸ CFU/mL
30	Vírus do Nilo Ocidental	Plasma positivo
31	Vírus da Hepatite A	Plasma positivo
32	Vírus da Hepatite B	Plasma positivo
33	Vírus da Hepatite C	Plasma positivo
34	Vírus Epstein Barr	Plasma positivo
35	Vírus da Chikungunya	Plasma positivo
36	Zikavirus	Plasma positivo

- Interferências

Os materiais interferentes listados na tabela a seguir foram adicionados às amostras teste nas concentrações descritas abaixo. Os resultados obtidos com o **AFIAS Dengue NS1 Ag** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentração
Heparina de lítio	100.000 U/L
Heparina sódica	100.000 U/L
Na-EDTA	2 mg/mL (5 µM)
K ₂ -EDTA	2 mg/mL (5 µM)
Citrato de sódio	25 mg/mL (0,085 µM)
Hemoglobina	2 mg/mL
BSA	60 mg/mL

Bilirrubina	0,24 mg/mL (400 µM)
Triglicerídeos	1,5 mg/mL
Colesterol	7,7 mg/mL (20 mM)
Fator Reumatoide	200 mg/mL

- Precisão

- Entre dias
Uma pessoa testou 1 lote de **AFIAS Dengue NS1 Ag** por 5 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi repetido três vezes.

- Entre lotes
Uma pessoa testou 3 lotes de **AFIAS Dengue NS1 Ag** por 5 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material estava em duplicata.

- Entre pessoas
Três pessoas testaram 1 lote de **AFIAS Dengue NS1 Ag** por 5 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material estava em duplicata.

- Entre locais
Uma pessoa testou 1 lote de **AFIAS Dengue NS1 Ag** por 5 dias em três locais diferentes. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material estava em duplicata.

Dengue NS1 Ag	Entre dias		Entre lotes	
	Pos./Número de testes	Taxa Pos.	Pos./Número de testes	Taxa Pos.
Negativo	0/30	0 %	0/60	0 %
Baixo positivo	30/30	100 %	60/60	100 %
Médio positivo	30/30	100 %	60/60	100 %
Alto positivo	30/30	100%	60/60	100%

Dengue NS1 Ag	Entre pessoas		Entre locais	
	Pos./Número de testes	Taxa Pos.	Pos./Número de testes	Taxa Pos.
Negativo	0/60	0 %	0/60	0 %
Baixo positivo	60/60	100 %	60/60	100 %
Médio positivo	60/60	100 %	60/60	100 %
Alto positivo	60/60	100%	60/60	100%

Comparabilidade

		Reagente de referência (RT-PCR)		
		Positivo	Negativo	Total
AFIAS	Positivo	60	0	60
Dengue NS1 Ag	Negativo	0	200	200
	Total	60	200	260

- Percentual de concordância positivo (PPA)
= 100% (95% IC: 94,0 - 100%)

- Percentual de concordância negativo (PNA)
= 100% (95% IC: 98,2 - 100%)

- Concordância total = 100%

GARANTIA

Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do teste não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

1. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. Daniel H. Library et al., The Journal of Infectious Diseases, 2002.

2. Potential application of nonstructural protein NS1 serotype-specific immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay in the seroepidemiologic study of dengue virus infection: Correlation of results with those of the plaque reduction neutralization test. Pei-Yun S. et al., Journal of Clinical Microbiology, 2002.

3. Evaluation of diagnostic tests: Dengue, Rosanna W. P. et. al., Nature, 2010.

Observação: Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos:

	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Consultar as instruções para utilização
	Validade
	Código do lote
	Número de catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limite de temperatura
	Não reutilizar
	Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i>

Boditech Med Inc.

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398, Republic of Korea
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

Fabricante: Boditech Med Incorporated
Regularizado por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ Cep: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
Anvisa – nº 10350840501
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br
www.biosys.com.br