

# PLATELIA™ DENGUE NS1 AG

96 TESTES

72830

---

**DETECÇÃO QUALITATIVA OU SEMI-QUANTITATIVA  
DO ANTÍGENO NS1 DO VÍRUS DA DENGUE NO  
SORO OU PLASMA HUMANO, PELO MÉTODO  
IMUNOENZIMÁTICO**

---

**IVD**



Sempre verifique se a versão da Instrução de Uso constante no rótulo externo do seu produto corresponde ao documento obtido no endereço eletrônico <http://www.bio-rad.com/pt-br/clinical-diagnostics/support>.

Para obter a Instrução de Uso em formato impresso, entre em contato com a Bio-Rad: [brz\\_bulas@bio-rad.com](mailto:brz_bulas@bio-rad.com).

**BIO-RAD**

## 1- INTERESSE CLÍNICO

A dengue é uma doença endêmica presente em todas as zonas tropicais e subtropicais do mundo. É considerada como a mais importante das arboviroses em termos de morbidade, mortalidade e impacto sócio-econômico. A prevalência global da dengue aumentou dramaticamente nos últimos anos e a doença é atualmente endêmica em mais de 100 países, onde afeta potencialmente 40% da população mundial. A Organização Mundial de Saúde calcula que, em cada ano, entre 50 e 100 milhões de casos de infecção pelo vírus da dengue venham a dar origem a um número entre 250.000 e 500.000 de formas graves e 24.000 mortes.

O vírus da dengue é transmitido por mosquitos, pertencentes principalmente às espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Existem quatro sorotipos distintos (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4). A infecção primária pelo vírus da dengue provoca uma imunidade protetora definitiva em relação ao sorotipo homólogo, mas não confere mais que uma proteção parcial e passageira contra os outros três sorotipos em caso de re-infecção (infecção secundária)

A infecção pelo vírus da dengue pode revestir diferentes quadros clínicos, desde a infecção assintomática, a febre indiferenciada ou a clássica dengue febril, até formas mais graves como a dengue hemorrágica e a dengue com síndrome de choque, para as quais se observam taxas elevadas de morbidade e de mortalidade. A dengue caracteriza-se por uma febre durante 3 a 5 dias, dores de cabeça, dores musculares e articulares, rash cutâneo, mas geralmente com um resultado favorável para o doente. A dengue hemorrágica e a dengue com síndrome de choque encontram-se sobretudo em doentes anteriormente infectados pelo vírus. Os sintomas são semelhantes aos da dengue febril, mas fazem-se acompanhar de um aumento da permeabilidade vascular e sinais hemorrágicos que levam a hipotensão, hipovolemia, colapso vascular e morte do doente.

O principal desafio associado ao tratamento de doentes infectados é a rapidez e a especificidade da detecção do vírus da dengue durante a fase aguda, de forma a instituir um tratamento eficaz, o mais rapidamente possível. O isolamento e a identificação do vírus ou a detecção de ácido nucleico viral permitem um diagnóstico precoce durante a fase febril, mas estes métodos requerem um ambiente de laboratório especializado e não é possível obter resultados imediatos. A detecção de anticorpos específicos dirigidos contra o vírus da dengue é o método classicamente utilizado no controle de rotina.

No entanto, estes anticorpos surgem apenas após o aparecimento dos primeiros sintomas. Na infecção primária, os anticorpos de tipo IgM e IgG elevam-se respectivamente cerca de 5 a 14 dias após o aparecimento dos primeiros sintomas. Na infecção secundária, as taxas de IgM são fracas ou até indetectáveis, enquanto que as de IgG se elevam, 1 a 2 dias após o aparecimento dos sintomas, com taxas muito superiores às observadas durante uma infecção primária. Mais recentemente, a detecção da proteína viral não estrutural NS1 no soro de doentes foi descrita como um método alternativo para diagnóstico precoce da infecção. O antígeno NS1 encontra-se na circulação desde o primeiro até ao nono dia seguinte ao aparecimento da febre, e as taxas observadas são comparáveis nas formas primárias e secundárias de infecção.

## **2- PRINCÍPIO DO TESTE**

O teste Platelia™ Dengue NS1 Ag é um método imunoenzimático em uma fase, de tipo sandwich, em formato microplaca, para detecção qualitativa ou semi-quantitativa do antígeno NS1 do vírus da dengue no soro ou plasma humano. O testes utiliza anticorpos monoclonais de ratinho (AcM) para a captura e a revelação.

As amostras de doentes e os controles são incubados diretamente e em simultâneo com o conjugado, durante 90 minutos a 37°C, nos poços da microplaca sensibilizada pelos AcM. Em presença do antígeno NS1 na amostra, forma-se um complexo imune AcM - NS1 - AcM/peroxidase. Após as lavagens praticadas no final da incubação, a presença do complexo imune é revelada por adição, em cada poço, de uma solução de revelação enzimática que induz o desenvolvimento de uma reação de coloração. Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente, a reação enzimática é parada por adição de uma solução de ácido. A densidade óptica obtida a 450/620 nm é proporcional à quantidade de antígeno NS1 presente na amostra testada. A presença do antígeno NS1 numa amostra individual é determinada por comparação da densidade óptica lida nesta amostra e a obtida no soro do valor de calibrador.

### 3- COMPOSIÇÃO DO DISPOSITIVO

Etiquetagem		Natureza dos reagentes	Apresentação
R1	<b>Microplate</b>	<b>Microplaca</b> (pronta a utilizar): 12 tiras de 8 poços sensibilizados por AcM anti-NS1, em bolsas seladas no vácuo	1
R2	<b>Concentrate d Washing Solution (20x)</b>	<b>Solução de lavagem concentrada (20x):</b> Tampão TRIS-NaCl (pH 7,4), 2% Tween® 20. Conservante: < 1,5% ProClin™ 300	1 x 70 mL
R3	<b>Negative Control</b>	<b>Controle negativo:</b> Soro humano negativo para o antígeno dengue NS1 Conservante: < 1,5% ProClin™ 300	1 x 1,0 mL
R4	<b>Calibrator</b>	<b>Calibrador:</b> Tampão TRIS-NaCl buffer (pH 8,0), antígeno dengue NS1, soro de albumina de bovino, glicerol, E102, E122 Conservante: < 1,5% ProClin™ 300	1 x 1,5 mL
R5	<b>Positive Control</b>	<b>Controle positivo:</b> Tampão TRIS-NaCl (pH 8,0), antígeno dengue NS1, soro de albumina de bovino, glicerol, E102, E122 Conservante: < 1,5% ProClin™ 300	1 x 1,0 mL
R6	<b>Conjugate (50x)</b>	<b>Conjugado (50x):</b> AcM anti-NS1 ligado à peroxidase Conservante: < 1,5% ProClin™ 300	1 x 0,5 mL
R7	<b>Diluent</b>	<b>Diluente</b> (pronto a utilizar): Tampão fosfato, Tween® 20, soro de vitelo fetal Conservante: < 1,5% ProClin™ 300	1 x 22 mL
R9	<b>Chromogen TMB</b>	<b>Cromógeno (pronto para utilização):</b> 3,3',5,5' tetrametilbenzidina (< 0,1%), H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (<1%)	1 x 28 mL
R10	<b>Stopping Solution</b>	<b>Solução de paragem</b> (pronta a utilizar): Ácido sulfúrico 1N	1 x 28 mL
		Fita adesiva	4

Para informações sobre as condições de conservação e prazos de expiração dos reagentes é favor consultar as indicações incluídas na embalagem.

## **4- PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO**

A qualidade dos resultados depende do cumprimento das seguintes Boas Práticas de Laboratório:

- Não utilizar reagentes cujo prazo de validade tenha terminado.
- Não misturar nem associar, numa mesma série, reagentes provenientes de dispositivos que ostentem números de lote diferentes.

**OBSERVAÇÃO:** *Para a solução de lavagem (R2, identificação da etiqueta: 20x cor verde), Cromógeno (R9, identificação da etiqueta: TMB cor turquesa) e solução de paragem (R10, identificação da etiqueta: 1N cor vermelha), é possível utilizar outros lotes para além dos incluídos no kit, desde que estes reagentes sejam estritamente equivalentes e o mesmo lote seja utilizado dentro da mesma ocorrência de teste.*

**OBSERVAÇÃO:** *Não é possível usar o diluente (R7) provenientes de outros lotes.*

**OBSERVAÇÃO:** *Para além disso, a solução de lavagem (R2, identificação do rótulo : cor verde 20x) pode ser misturada com as outras 2 soluções de lavagem incluídas nos kits de reagentes Bio-Rad (R2, identificações dos rótulo: cor azul 10x ou cor laranja 10x) quando adequadamente reconstituídas, desde que apenas uma mistura seja utilizada num determinado ensaio.*

- Antes da utilização, aguardar até que os reagentes atinjam a temperatura ambiente (+18-30°C).
- Reconstituir ou diluir cuidadosamente os reagentes, evitando qualquer contaminação.
- Não efetuar o teste em presença de vapores reativos (ácidos, alcalinos, aldeídos) ou de poeiras que possam alterar a atividade enzimática do conjugado.
- Utilizar recipientes em vidro perfeitamente lavados e enxaguados com água destilada ou, de preferência, material descartável.
- Não deixar secar a placa entre o final das lavagens e a distribuição dos reagentes.
- A reação enzimática é muito sensível a todos os metais ou íons metálicos. Por conseguinte, nenhum elemento metálico deverá entrar em contato com as diferentes soluções que contêm o conjugado ou a solução substrato.
- A solução de cromógeno (R9) deve ser incolor. A presença de uma cor azul indica que o reagente não pode ser utilizado, devendo este ser substituído.
- Utilizar uma ponta de distribuição nova para cada soro.

- A lavagem dos poços é uma etapa essencial da manipulação: respeitar o número de ciclos de lavagem prescritos e assegurar que todos os poços são completamente cheios e depois esvaziados. Uma lavagem deficiente pode dar origem a resultados incorretos.
- Nunca utilizar o mesmo recipiente para distribuir o conjugado e a solução de revelação.
- Verificar a exatidão das pipetas e o bom funcionamento dos aparelhos utilizados.
- Não alterar o modo de procedimento.

## **INSTRUÇÕES DE HIGIENE E SEGURANÇA**

- Os materiais de origem humana utilizados na preparação dos reagentes foram testados e comprovados como não reativos em antígeno de superfície em relação ao vírus da hepatite B (Ag HBs), em anticorpos dirigidos contra o vírus da hepatite C (anti-HCV) e em anticorpos dirigidos contra os vírus de imunodeficiência humana (anti-HIV1 e anti-HIV2). Pelo fato de nenhum método poder garantir, de forma absoluta, a ausência de agentes infecciosos, estes reagentes de origem humana, bem como as amostras dos doentes, deverão ser considerados como potencialmente infecciosos e, como tal, manipulados com as precauções habituais.
- Considerar o material diretamente em contato com as amostras e os reagentes de origem humana, bem como as soluções de lavagem, como produtos contaminados.
- Usar luvas descartáveis na manipulação dos reagentes.
- Não pipetar com a boca.
- Evitar qualquer derramamento das amostras ou das soluções que as contenham. As superfícies atingidas deverão ser lavadas com lixívia a uma diluição de 10%. Se o líquido contaminante for um ácido, as superfícies contaminadas deverão ser previamente neutralizadas com bicarbonato de sódio e depois lavadas com lixívia e secas com papel absorvente. O material utilizado para a limpeza deverá ser eliminado em contentor especialmente reservado a resíduos contaminados.
- As amostras de origem humana, bem como o material e os produtos contaminados, deverão ser eliminados após descontaminação, seja por imersão, durante 30 minutos, em lixívia à concentração final de 5% de hipocloreto de sódio, ou por esterilização em autoclave a 121°C durante um mínimo de 2 horas.

A esterilização em autoclave a 121°C, durante um mínimo de uma hora, é o melhor método para inactivar os vírus HIV e o vírus da hepatite B.

***ATENÇÃO: Não introduzir na autoclave soluções contendo hipocloreto de sódio***

- Evitar qualquer contato do tampão substrato, do cromógeno e da solução de paragem com a pele e as mucosas (risco de toxicidade, irritações e queimaduras).
- A manipulação e eliminação dos produtos químicos deverão processar-se de acordo com as Boas Práticas de Laboratório.



**Xi - Irritante**

**Atenção: Alguns reagentes contêm ProClin™ 300 < 1,5%**

R43: Pode causar sensibilização em contato com a pele

S28-37: Após contato com a pele, lavar imediata e abundantemente com água e sabão. Usar luvas adequadas.

## 5- COLETAS, PREPARAÇÃO E CONSERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

1. Os testes são efetuados em amostras de soro ou amostras de plasma recolhidas em EDTA, citrato ou heparina.
2. Respeitar as instruções que se seguem quanto à coleta, tratamento e conservação destas amostras:
  - Coleta as amostras de sangue segundo a prática habitual.
  - No caso das coletas em soro, deixar que o depósito se forme completamente, antes de centrifugar.
  - Conservar os tubos fechados.
  - Após centrifugação, extrair o soro ou o plasma e conservá-lo em tubo fechado.
  - As amostras deverão ser conservadas a +2-8°C, se os testes forem realizados nas 24 horas seguintes.
  - Se os testes não se realizarem no prazo de 24 horas ou se for necessário transportar as amostras, estas deverão ser preferencialmente congeladas a -20°C (ou mais frio).
  - Não utilizar amostras que tenham sido submetidas a mais de três ciclos de congelação/descongelação. Antes de serem testadas, as amostras deverão ser cuidadosamente homogeneizadas após descongelação (vórtex).
3. Os resultados não são afetados por amostras que contenham 100 mg/l de bilirrubina e amostras lipêmicas contendo o equivalente a 36 g/l de trioleína (triglicerido). Pode verificar-se um aumento da razão de amostras negativas com concentrações em albumina de 90g/l ou em amostras hemolisadas contendo 10mg/mL de hemoglobina.
4. Não aquecer as amostras.

## 6- FUNCIONAMENTO

### 6.1. MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- Agitador tipo vórtex.

- Aparelho de leitura para microplacas (equipado com filtros 450/620 nm). (\*)
- Recipiente de banho-maria ou incubadora a seco para microplacas, com termostato a  $37\pm 1^\circ\text{C}$ . (\*)
- Sistema de lavagem manual, semi-automático ou automático para microplacas. (\*)
- Contentor de resíduos contaminados.
- Hipocloreto de sódio (lixívia) e bicarbonato de sódio.
- Água destilada ou deionizada estéril.
- Provetas graduadas a 25 mL, 50 mL, 100 mL e 1000 mL.
- Luvas descartáveis.
- Óculos de proteção.
- Papel absorvente.
- Pipetas ou multipipetas, automáticas ou semi-automáticas, reguláveis ou fixas, com capacidade de medição de 50  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$ , 300  $\mu\text{L}$  e 1000  $\mu\text{L}$ .
- Tubos descartáveis.

(\*) Para obter informações mais precisas relativamente aos aparelhos validados pelos nossos serviços técnicos é favor contactar-nos.

## 6.2. RECONSTITUIÇÃO DOS REAGENTES

- **R1:** Deixar estabilizar à temperatura ambiente ( $+18-30^\circ\text{C}$ ) antes de abrir a bolsa. Colocar imediatamente na bolsa as tiras não utilizadas, verificando se contém o dessecante. Voltar a fechar cuidadosamente a bolsa e conservá-la a  $+2-8^\circ\text{C}$ .
- **R2:** Dilua 1/20 de solução de lavagem R2 em água destilada: por exemplo 50 mL de R2 e 950 mL de água destilada para obter a solução de lavagem pronta para utilização. Se lavar manualmente, prepare 350 mL de solução de lavagem diluída para uma placa de 12 tiras.
- **R6+R7:** O conjugado (R6) é apresentado sob a forma líquida, 50 vezes concentrado. Homogeneizar antes de utilizar. Diluir a 1/50 com o diluente (R7). Para uma tira, diluir 20  $\mu\text{L}$  de R6 qsp. 1,0 mL de R7. Multiplicar os volumes por 12, para uma placa completa.

## 6.3. CONSERVAÇÃO DOS REAGENTES ABERTOS E/OU RECONSTITUÍDOS

O kit deve ser armazenado a uma temperatura entre  $+2^\circ\text{C}$  e  $+8^\circ\text{C}$ . Quando o kit é armazenado entre  $+2^\circ\text{C}$  e  $+8^\circ\text{C}$  antes de ser aberto, cada componente pode ser utilizado até à data de validade indicada na etiqueta externa do kit.

- **R1:** Após a abertura, as tiras conservadas na bolsa devidamente fechada mantêm-se estáveis durante 6 semanas a  $+2-8^\circ\text{C}$  (verificar se contém o dessecante).



- **R2:** Uma vez diluída, a solução de lavagem pode ser guardada durante 2 semanas a uma temperatura entre +2°C e +30°C. A solução de lavagem concentrada armazenada a uma temperatura entre +2°C e +30°C, na ausência de contaminação, é estável até à data de validade indicada na etiqueta.
- **R6+R7:** Após diluição, a solução reconstituída mantém-se estável durante 8 horas à temperatura ambiente. (+18-30°C).
- **R3, R4, R5, R6, R7, R10:** Após a abertura e na ausência de contaminação, os reagentes conservados a +2-8°C mantêm-se estáveis até ao termo do prazo de validade indicado na etiqueta.
- **R9:** Uma vez aberto e sem qualquer contaminação, o reagente armazenado a uma temperatura entre +2°C e +8°C é estável durante 8 semanas .

#### 6.4. PROCEDIMENTO

Seguir estritamente o protocolo descrito.

Antes de utilizar, aguardar até que todos os reagentes atinjam a temperatura ambiente (+18-30°C).

Utilizar um controle negativo (R3), dois calibradores (R4) e um controle positivo (R5) em cada série, para validar os resultados da quantificação.

1. Estabelecer cuidadosamente o plano de distribuição e identificação das amostras de calibrador, controles e de doentes (S1, S2...) como indicado a seguir:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R3	S5										
B	R4	S6										
C	R4	S7										
D	R5	S8										
E	S1	S9										
F	S2	S10										
G	S3	S11										
H	S4	S12										

2. Retirar o suporte e as tiras (R1) da embalagem de proteção (*ver capítulo 6.2*).
3. Seguir estritamente a sequência de distribuição descrita, depositando sucessivamente nos poços:
  - 50µL de diluente (R7)
  - 50µL de amostras (calibrador, controlos ou doentes)
  - 100µL do conjugado diluído (R6+R7)

**Nota:** : A distribuição do diluente, das amostras e do conjugado pode ser controlada visualmente nesta fase do protocolo. A adição da amostra em estado puro ao diluente traduz-se numa alteração de cor, de amarelo para laranja. A adição do conjugado traduz-se então numa alteração de cor de laranja para verde. Este controle pode não ser eficaz, caso se utilizem amostras diluídas.

4. Cobrir a microplaca com uma fita adesiva, pressionando bem sobre toda a superfície para assegurar a estanqueidade.
5. Incubar a microplaca em banho-maria ou numa incubadora seca a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante  $90 \pm 5$  minutos.
6. Preparar a solução de lavagem diluída (R2) (ver capítulo 6.2).
7. No fim da incubação, retirar a fita adesiva, aspirar o conteúdo de todos os poços para um contentor de resíduos contaminados (contendo hipocloreto de sódio). Lavar a microplaca 6 vezes com a solução de lavagem (R2). Secar a placa por inversão sobre uma folha de papel absorvente.

**Nota:** É importante evitar qualquer derramamento dos reagentes durante as fases de aspiração e de lavagem.

8. Num local escuro, distribua rapidamente em cada poço 160  $\mu\text{L}$  de solução de comógeno (R9). Deixe a reação ocorrer no escuro, durante 30 minutos  $\pm$  5 minutos a uma temperatura ambiente (entre  $+18^\circ\text{C}$  e  $+30^\circ\text{C}$ ). Não utilize selante de placa adesivo durante esta incubação.
9. Pare a reação enzimática adicionando 100  $\mu\text{L}$  de solução de paragem (R10) em cada poço. Utilize a mesma sequência e proporção de distribuição da solução de desenvolvimento.
10. Secar cuidadosamente a superfície inferior das placas. Proceder à leitura da densidade óptica a 450/620 nm por meio de um leitor de placas, nos 30 minutos que se seguem à parada da reação (Conservar as tiras ao abrigo da luz, antes de efetuar a leitura).
11. Antes da transcrição dos resultados, assegurar a concordância entre os dados de leitura e o plano de distribuição e de identificação das placas e das amostras.

## **7- CÁLCULO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

### **7.1. CÁLCULO DO VALOR DE "CUT-OFF"**

O valor de "cut-off" (CO) corresponde ao valor médio das densidades ópticas das duplicações do Calibrador (R4).

## 7.2. CÁLCULO DA RAZÃO DE AMOSTRAS

Os resultados são expressos sob a forma de uma razão com a ajuda da fórmula seguinte, em que S é a densidade óptica (DO) obtida para a amostra:

- Razão Amostra =  $S/CO$

## 7.3. CONTROLE DE QUALIDADE

Para validar a manipulação é necessário respeitar os critérios seguintes:

- Valor de densidade óptica:
  - $CO > 0,200$
- Razões:
  - Razão  $R3 < 0,40$  (Razão  $R3 = DO_{R3} / CO$ )
  - Razão  $R5 > 1,50$  (Razão  $R5 = DO_{R5} / CO$ )

Se estas especificações não forem respeitadas, efetuar de novo a manipulação.

## 7.4. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Consultar o quadro seguinte para a interpretação dos resultados.

Razão	Resultado	Interpretação
$R < 0,50$	Negativo	A amostra é considerada não reactiva para o antígeno NS1 do vírus da dengue.
$0,50 \leq R < 1,00$	Equívoco	A amostra é considerada dúbia quanto ao antígeno NS1 do vírus da dengue.
$R \geq 1,00$	Positivo	A amostra é considerada reativa para o antígeno NS1 do vírus da dengue.

**Observação:** As densidades ópticas obtidas em amostras fortemente reativas podem atingir a densidade óptica máxima susceptível de ser lida pelo espectrofotómetro.

## 7.5. EXPLICAÇÃO DAS CAUSAS DE ERRO

A origem de reações não validadas ou não reprodutíveis está, muitas vezes, relacionada com as causas seguintes:

- Lavagem insuficiente das microplacas.
- Contaminação das amostras negativas por um soro ou um plasma fortemente concentrado.
- Contaminação pontual da solução de revelação por agentes químicos oxidantes (lixívia, íons metálicos ...).
- Contaminação pontual da solução de paragem.

## 8- DESEMPENHOS

### 8.1. SENSIBILIDADE - ESPECIFICIDADE

- **Sensibilidade**

A sensibilidade foi avaliada por análise retrospectiva de 177 soros de doentes que sofriam de infecção aguda pelo vírus da dengue, confirmada por RT-PCR. Nesta população, o teste Platelia™ Dengue NS1 Ag revelou ser positivo em 91% dos casos (intervalo de confiança a 95%: 85,8%-94,8%). Comparativamente, a sensibilidade obtida com um teste comercializado Dengue IgM EIA foi de 17,5%.

A sensibilidade era significativamente mais elevada na população de amostras negativas em IgG provenientes de infecções primárias (sensibilidade de 98,5%, n= 66) do que na de amostras positivas em IgG (sensibilidade de 85,6%, n=90) (Teste de  $\chi^2$ , p=0,004).

Não se observou qualquer diferença significativa em função do sorotipo de vírus da dengue responsável (*ver Quadro 1*).

**Quadro 1:** Sensibilidade do teste Platelia™ Dengue NS1 Ag em função do sorotipo (n=177).

Sorotipo	Nº de soros	Sensibilidade do teste Platelia™ Dengue NS1 Ag (IC 95%)
1	93	88,9% (85,8% - 94,8%)
2	31	87,1% (70,1% - 96,3%)
3	24	100,0% (85,6% - 100,0%)
4	29	93,3% (77,9% - 97,9%)

A precocidade do diagnóstico com a ajuda do teste Platelia™ Dengue NS1 Ag foi estudada em soros de doentes para os quais a data de aparecimento da febre estava documentada. As sensibilidades mais elevadas são obtidas desde o aparecimento dos sinais clínicos e mantêm-se elevadas ao longo de todo o episódio febril (*ver Quadro 2*).

**Quadro 2:** Sensibilidade do teste Platelia™ Dengue NS1 Ag em função do aparecimento dos sinais clínicos (n=177).

Dias após o aparecimento da febre	Nº de soros	Sensibilidade do teste Platelia™ Dengue NS1 Ag	Sensibilidade do teste Dengue IgM EIA
0	10	100,0%	0,0%
1	33	87,8%	5,1%
2	40	92,5%	6,1%
3	20	95,0%	15,0%
4	27	96,3%	48,1%
5	19	52,6%	94,1%
≥ 6	28	35,7%	100,0%

### • Especificidade

A especificidade foi avaliada em 618 amostras, compreendendo 563 amostras recolhidas em doadores de sangue e 55 amostras recolhidas em doentes hospitalizados. Não foi observado qualquer resultado positivo na população estudada, ou seja, a especificidade do teste é de 100,0% (intervalo de confiança a 95%: 99,4% - 100,0%).

## 8.2. PRECISÃO

### • Precisão intra-ensaio (repetibilidade)

Para avaliar a repetibilidade intra-ensaio, uma amostra negativa e três amostras positivas foram testadas 30 vezes numa mesma série. A razão (S/CO) foi determinado para cada amostra testada. A média, o desvio padrão (SD) e o coeficiente de variação (%CV) para cada uma das quatro amostras estão indicados no Quadro 3.

**Quadro 3:** Precisão intra-ensaio.

N=30	Amostra negativa	Amostra fracamente positiva	Amostra medianamente positiva	Amostra fortemente positiva
	<b>Razão da amostra (S/CO)</b>			
<b>Média</b>	0,10	1,32	3,79	6,24
<b>SD</b>	0,01	0,08	0,29	0,45
<b>% CV</b>	<b>13,1</b>	<b>6,2</b>	<b>7,7</b>	<b>7,2</b>

- **Precisão inter-ensaios (reprodutibilidade)**

Para avaliar a reprodutibilidade inter-ensaios, as quatro amostras (uma negativa e três positivas) foram individualmente testadas em duplicado, em duas séries por dia, ao longo de um período total de vinte dias. A razão (S/CO) foi determinada para cada amostra testada. A média, o desvio padrão (SD) e o coeficiente de variação (%CV) para cada uma das quatro amostras são indicados no Quadro 4.

**Quadro 4:** Precisão inter-ensaios.

<b>N=40</b>	<b>Amostra negativa</b>	<b>Amostra fracamente positiva</b>	<b>Amostra medianamente positiva</b>	<b>Amostra fortemente positiva</b>
	<b>Razão de amostra (S/CO)</b>			
<b>Média</b>	0,10	1,17	3,85	6,20
<b>SD</b>	0,03	0,21	0,67	0,96
<b>% CV</b>	<b>33,8</b>	<b>17,8</b>	<b>17,4</b>	<b>15,5</b>

### **8.3. REATIVIDADE CRUZADA**

Um painel de 38 soros contendo substâncias potencialmente interferentes foi testado com o teste Platelia™ Dengue NS1 Ag: anticorpos antinucleares (n=10), fator reumatóide (n=9), anticorpos heterófilos (n=9), soros de doentes atingidos com mieloma (n=10). Além disso, um painel de 162 soros de doentes atingidos com outras doenças, que não a dengue (West Nile, febre amarela, CMV, HSV, VZV, etc...) foi igualmente testado. As 200 amostras testadas revelaram-se todas negativas com o teste Platelia™ Dengue NS1 Ag.

## **9- LIMITES DO TESTE**

O diagnóstico de uma infecção recente pelo vírus da dengue só poderá ser definitivamente estabelecido quando acompanhado de um conjunto de dados clínicos e biológicos. O resultado de um único teste não constitui, só por si, prova suficiente para o diagnóstico de uma infecção recente.

## **10-CONTROLE DA QUALIDADE DE FABRICAÇÃO**

Todos os produtos fabricados e comercializados pela empresa Bio-Rad são submetidos a um sistema de garantia de qualidade, desde a recepção das matérias primas até à comercialização do produto final. Cada lote do produto final é objeto de um controle da qualidade, sendo comercializado apenas quando em total conformidade com os critérios de aceitação. A documentação relativa à produção e controle de cada lote é arquivada pelo fabricante.

## **11-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. ALCON, S., TALARMIN, A., DEBRUYNE, M., FALCONAR, A., DEUBEL, V., FLAMAND, M. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 non structural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J. Clin. Microbiol.* 2002 Feb;40(2):376-81.
2. LINDEGREN, G., VENE, S., LUNDKVIST, A., FALK, K.I., Optimized diagnosis of acute dengue fever in swedish travelers by a combination of reverse transcription-PCR and immunoglobulin M detection. *J. Clin. Microbiol.* 2005 Jun;43(6):2850-5.
3. LOLEKHA, R., CHOKEPHAIBULKIT, K., YOKSAN, S., VANPRAPAR, N., PHONGSAMART, W., CHEARSKUL, S. Diagnosis of dengue infection using various diagnostic tests in the early stage of illness. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2004 Jun;35(2):391-5.
4. SHU, P., HUANG, J. Current advances in dengue diagnosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004 Jul;11(4):642-50.
5. TELES, F., PRAZERES, D., LIMA-FILHO, J.L. Trends in dengue diagnosis. *Rev. Med. Virol.* 2005 Sep-Oct;15(5):287-302.

CE

- (US) - CE marking (European directive 98/79/CE on *in vitro* diagnostic medical devices)  
 (F) - Marquage CE (Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*)  
 (E) - Marcado CE (Directiva europea 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*)  
 (I) - Marchiatura CE (Direttiva europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*)  
 (D) - CE Konformitätskennzeichnung (Europäische Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika)  
 (P) - Marcação CE (Directiva europea 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*)  
 (S) - CE-märkning (Europeiskt direktiv 98/79/EG om medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik)  
 (DK) - CE-mærkningen (Europa direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik)  
 (GR) - Χαρακτηρισμός CE (ευρωπαϊκή οδηγία 98/79/CE περί *in vitro* διαγνωστικών ιατρικών συσκευών)  
 (PL) - CE oznaczenie (Dyrektywa unijna 98/79/CE dotycząca produktów medycznych do badań *in vitro*)  
 (LT) - CE ženklas (Europos sąjungos direktyva 98/79/CE dėl *in vitro* diagnostikos medicinos prietaisų)  
 (H) - CE jelzés (98/79/CE Európai Irányelv az *in vitro* orvosi diagnosztikai eszközökről)  
 (EST) - CE märgistus (Euroopa direktiiv 98/79/CE *in vitro* diagnostikameditsiiniseadmete kohta)  
 (SK) - CE označenie o zhode (Európska direktíva 98/79/CE pre *in vitro* diagnostické zdravotnícke postupy)  
 (CZ) - CE značka (Evropská direktiva 98/79/CE o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*)  
 (N) - CE-merking (EU-direktiv 98/79/CE om medisinsk utstyr til *in vitro*-diagnostikk)  
 (RO) - Marca CE (Directiva europeana 98/79/CE pentru dispozitive medicale de diagnostic *in vitro*)  
 (BG) - CE маркировка (Европейска директива 98/79/CE за *in vitro* диагностичните медицински изделия)

IVD

- (US) - For *in vitro* diagnostic use  
 (F) - Pour diagnostic *in vitro*  
 (E) - Para diagnóstico *in vitro*  
 (I) - Per uso diagnostico *in vitro*  
 (D) - In-vitro-Diagnostikum  
 (P) - Para uso em diagnóstico *in vitro*  
 (S) - *In vitro*-diagnostik  
 (DK) - *In vitro* diagnose  
 (GR) - Για *in vitro* διαγνωστική χρήση  
 (PL) - Do stosowania *in vitro*  
 (LT) - *in vitro* diagnostikai  
 (H) - Csak *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra  
 (EST) - *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks  
 (SK) - Na diagnostiku *in vitro*  
 (CZ) - Pro diagnostiku *in vitro*  
 (N) - Til *in vitro*-diagnostikk  
 (RO) - Pentru diagnostic *in vitro*  
 (BG) - За *in vitro* диагностика

REF

- (US) - Catalogue number  
 (F) - Référence catalogue  
 (E) - Número de catálogo  
 (I) - Numero di catalogo  
 (D) - Bestellnummer  
 (P) - Número de catálogo  
 (S) - Katalognummer  
 (DK) - Katalognummer  
 (GR) - Αριθμός καταλόγου  
 (PL) - Numer katalogu  
 (LT) - Katalogo numeris  
 (H) - Cikkszám  
 (EST) - Katalooginumber  
 (SK) - Katalógové číslo  
 (CZ) - Katalógové číslo  
 (N) - Katalognummer  
 (RO) - Număr de catalog  
 (BG) - Каталоген номер



EC REP

- (US) - Manufacturer  
 (F) - Fabricant  
 (E) - Fabricante  
 (I) - Produttore  
 (D) - Hersteller  
 (P) - Fabricante  
 (S) - Tillverkad av  
 (DK) - Fremstillet af  
 (GR) - Κατασκευαστής  
 (PL) - Producent  
 (LT) - Gamintojas  
 (H) - Gyártó  
 (EST) - Tootja  
 (SK) - Výrobca  
 (CZ) - Výrobce  
 (N) - Produsent  
 (RO) - Producător  
 (BG) - Производител

- (US) - Authorised Representative  
 (F) - Représentant agréé  
 (E) - Representante autorizado  
 (I) - Distributore autorizzato  
 (D) - Bevollmächtigter  
 (P) - Representante Autorizado  
 (S) - Auktoriserad representant  
 (DK) - Autoriseret repræsentant  
 (GR) - Εξουσιοδοτημένος αντιπροσωπός  
 (PL) - Uprawniony Przedstawiciel  
 (LT) - Įgaliojasis atstovas  
 (H) - Meghatalmazott Képviselő  
 (EST) - Volitatud esindaja  
 (SK) - Autorizovaný zástupca  
 (CZ) - Zplnomocnený zástupce  
 (N) - Autorisert representant  
 (RO) - Reprezentant autorizat  
 (BG) - Упълномощен представител

LOT



- (US) - Batch code  
 (F) - Code du lot  
 (E) - Código de lote  
 (I) - Codice del lotto  
 (D) - Chargen-Bezeichnung  
 (P) - Código do lote  
 (S) - Batchnr  
 (DK) - Batchkoden  
 (GR) - Κωδικός παρτίδας  
 (PL) - Numer serii  
 (LT) - Serijos numeris  
 (H) - Gyártási szám  
 (EST) - Partii kood  
 (SK) - Číslo šarže  
 (CZ) - Číslo šarže  
 (N) - Partikode  
 (RO) - Număr de lot  
 (BG) - Партиден номер

- (US) - Expiry date YYYY/MM/DD  
 (F) - Date de peremption AAAA/MM/JJ  
 (E) - Estable hasta AAAA/MM/DD  
 (I) - Da utilizzare prima del AAAA/MM/GG  
 (D) - Verwendbar bis JJJJ/MM/TT  
 (P) - Data de expiração AAAA/MM/DD  
 (S) - Utgångsdatum ÅÅÅÅ/MM/DD  
 (DK) - Anvendes før ÅÅÅÅ/MM/DD  
 (GR) - Ημερομηνία λήξης YYYY/MM/DD  
 (PL) - Data ważności YYYY/MM/DD  
 (LT) - Galioja iki YYYY/MM/DD  
 (H) - Szavatossági idő ÉÉÉÉ/HH/NN  
 (EST) - Aegumistätähtaeg AAAA/KK/PP  
 (SK) - Použitelné do RRRR/MM/DD  
 (CZ) - Datum expirace RRRR/MM/DD  
 (N) - Utløpsdato ÅÅÅÅ/MM/DD  
 (RO) - Data expirării AAAA/LL/ZZ  
 (BG) - Срок на годност година/месец/ден





- (US) - Storage temperature limitation  
(F) - Limites de températures de stockage  
(E) - Temperatura limite  
(I) - Limiti di temperatura di conservazione  
(D) - Lagertemperatur  
(P) - Limites de temperatura de armazenamento  
(S) - Temperaturbegränsning  
(DK) - Temperaturbegrænsning  
(GR) - Περιορισμός θερμοκρασίας αποθήκευσης  
(PL) - Temperatura przechowywania  
(LT) - Saugojimo temperatūriniai apribojimai  
(H) - Tárolási hőmérsékleti határok  
(EST) - Päärdavustemperatuurilise  
(SK) - Skladovacia teplota od do  
(CZ) - Teplotní rozmezi od do  
(N) - Oppbevaringstemperatur  
(RO) - Limitele de temperatură la stocare  
(BG) - Температурни граници на съхранение



- (US) - Consult Instruction for use  
(F) - Consulter le mode d'emploi  
(E) - Consulte las instrucciones de uso  
(I) - Consultare le istruzioni per uso  
(D) - Siehe Gebrauchsanweisung  
(P) - Consulte o folheto informativo  
(S) - Se bruksanvisningen  
(DK) - Se instruktion for brug  
(GR) - Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης  
(PL) - Sprawdź instrukcję  
(LT) - Iškokite informacijos vartojimo instrukcijose  
(H) - Olvassa el a használati utasítást  
(EST) - Kasutamisel vaata instruksiooni  
(SK) - Katalógové číslo  
(CZ) - Viz návod k použití  
(N) - Se bruksanvisninger  
(RO) - Consultati prospectul de utilizare  
(BG) - Виж инструкцията за употреба

- (US) - The other languages which are required in conformity to the European Directive can be obtained from your local Bio-Rad agent.
- (F) - Les autres langues requises par la Directive Européenne sont disponibles auprès de votre représentant Bio-Rad local.
- (E) - Los otros idiomas que se requieren para la conformidad de la Directiva Europea puede ser obtenida en su oficina local Bio-Rad.
- (I) - Le altre lingue che sono richieste in conformità con le Direttive Europee possono essere ottenute dal locale agente Bio-Rad.
- (D) - Die anderen Sprachen, die in Übereinstimmung mit der europäischen IVD Direktive benötigt werden, erhalten Sie über Ihre lokale Bio-Rad Niederlassung.
- (P) - As restantes línguas, obrigatórias em conformidade com a Directiva Europeia, podem ser obtidas através da subsidiária Bio-Rad mais próxima de si.
- (S) - Övriga språk som krävs i enlighet med EG-direktivet kan erhållas från din lokala Bio-Rad-representant.
- (DK) - De øvrige sprog som kræves i henhold til EU direktiv kan fås ved henvendelse til den lokale Bio-Rad leverandør.
- (GR) - Τις υπολοίπες γλώσσες που απαιτούνται για συμμορφωση στην ευρωπαϊκή οδηγία μπορείτε να τις προμηθευθείτε από τον τοπικό σας αντιπρόσωπο Bio-Rad.
- (PL) - Tłumaczenie w innych językach które są wymagane w Dyrektywie Unijnej może być otrzymane od lokalnego przedstawiciela firmy Bio-Rad.
- (LT) - Vertimus, reikalingus pagal Europos sąjungos direktyvos reikalavimus, į kitas kalbas galite gauti iš vietinio Bio-Rad atstovo.
- (H) - A leírás az Európai Irányelv által előírt egyéb nyelveken hozzáférhető a Bio-Rad helyi kirendeltségénél.
- (EST) - Teised vastavalt Euroopa Direktiivile nõutavad keeled on saadaval kohaliku Bio-Radi edasimüüja käest.
- (SK) - Ostatné jazykové verzie, ktoré sú vyžadované v zhode s Európskou direktívou, možno obdržať od vášho lokálneho zástupcu Bio-Rad.
- (CZ) - Další jazykové verze vyžadované ve shodě s evropskou direktivou jsou k dispozici u lokálního zástupce firmy Bio-Rad.
- (N) - Övriga språk som kreves i henhold til EU-direktivet, fås fra din lokale Bio-Rad-representant.
- (RO) - Alte traduceri cerute în conformitate cu Directiva Europeană se pot obține de la Reprezentanța Bio-Rad locală.
- (BG) - Останалите езици, които се изискват съгласно Европейската Директива, могат да Ви бъдат предоставени от локалния представител на Био-Рад.

**Bio-Rad**

3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette France  
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00  
Fax.: +33 (0) 1 47 41 91 33

**Bio-Rad Laboratórios Brasil Ltda**

Rua Alfredo Albano da Costa - 100 - salas 1,2 e 3  
CEP: 33.400-000 - Lagoa Santa - MG - Brasil  
CNPJ: 03.188.198/0001-77  
Tel.: (31) 3689-6600



12/2008

code: 881040