

Teste Rápido **OnSite**™ Leptospirose IgG/IgM Combo

REF R0101C

USO PRETENDIDO

O Teste Rápido *OnSite* Leptospirose IgG/IgM Combo é um imunoenensaio de fluxo lateral para a detecção simultânea e diferenciação de anticorpos IgG e IgM para *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) no soro humano, plasma ou sangue total. Destina-se a ser utilizado como um teste de triagem por profissionais, e fornece um resultado de teste preliminar para auxiliar no diagnóstico de infecção com *L. interrogans*.

Qualquer uso ou interpretação deste resultado de teste preliminar também deve contar com outros achados clínicos e o julgamento dos profissionais de saúde. Método(s) de ensaio alternativo devem ser considerados para confirmar o resultado do teste obtido por este dispositivo.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

A leptospirose ocorre no mundo inteiro e é um problema comum de saúde grave para os seres humanos e animais, particularmente em áreas com climas quentes e úmidos. Os reservatórios naturais para leptospirose são roedores, bem como uma grande variedade de mamíferos domesticados. A infecção humana é causada por *L. interrogans*, o membro patogênico do gênero de *Leptospira*^{1,2}. A infecção é transmitida através da urina do animal hospedeiro.

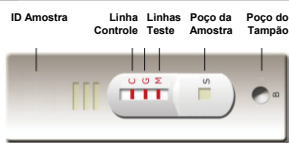
Após a infecção, leptospirosas estão presentes no sangue até que sejam eliminadas aproximadamente 4 a 7 dias depois do início da doença após a produção de anticorpos anti-*L. interrogans*. Os anticorpos contra leptospirose são detectáveis no 6º ao 10º dia da doença e os níveis máximos entre 3 a 4 semanas e depois diminuem de formagradual³. Os anticorpos podem ser detectados por anos após a infecção³. IgM anti-leptospira são detectáveis durante a primeira semana da doença permitindo a intervenção terapêutica precoce em um período de tempo que é mais eficaz³. Anticorpos da classe IgG aparecem um tempo depois da infecção e podem persistir durante vários anos.

A detecção sorológica de anticorpos anti-*L. interrogans* (IgM e IgG) é um método de diagnóstico comum. Os testes disponíveis incluem: 1) O teste de aglutinação microscópica (MAT)⁴; 2) ELISA^{5,6}; 3) testes de anticorpos de imunofluorescência indireta (IFATS)⁶. O isolamento de leptospirosas por culturas de sangue, urina e amostras de líquido cefalorraquidiano é um meio eficaz de confirmar o diagnóstico. No entanto, os métodos de cultura só podem ser aplicados na fase inicial da infecção, na 1ª e 2ª semanas após a exposição e a leptospremia termina na primeira semana da doença³. Todos os métodos acima mencionados requerem instalações sofisticadas e técnicos bem treinados.

O Teste Rápido *OnSite* Leptospirose IgG/IgM Combo é um simples teste sorológico que utiliza antígenos de *L. interrogans* para detectar e diferenciar os anticorpos IgG e IgM para leptospirose. O teste pode ser realizado dentro de 15-20 minutos por pessoal minimamente treinado e sem a utilização de equipamento de laboratório.

PRINCIPIO DO TESTE

O Teste Rápido *OnSite* Leptospirose IgG/IgM Combo é um imunoenensaio cromatográfico de fluxo lateral. O cassete é constituído por: 1) uma almofada de conjugado de cor vinho contendo antígenos conjugados de *L. interrogans* com ouro coloidal (conjugados de Leptospira) e um anticorpo de controle conjugado com ouro coloidal, 2) uma tira de membrana de nitrocelulose que contém duas linhas de teste (linhas M e G) e uma linha de controle (linha C). A linha M é pré-revestida com anticorpo monoclonal anti-IgM humano para a detecção de anticorpos IgM anti-*L. interrogans*, a linha G é pré-revestida com IgG monoclonal anti-humano para a detecção de IgG anti-*L. interrogans*, e a linha C é pré-revestida com um anticorpo de linha de controle.



Quando um volume adequado de amostra de teste é colocado no poço de amostra do cassete, a amostra migra por capilaridade através do cassete. IgM anti-*L. interrogans*, se presente na amostra, irá ligar-se aos conjugados Leptospira. O imunocomplexo é então capturado na membrana pelo anticorpo anti-IgM humano pré-revestido formando uma linha M de cor vinho, indicando um resultado positivo para anticorpo IgM anti-*L. interrogans*. IgG anti-*L. interrogans*, se estiver presente na amostra, irá ligar-se aos conjugados Leptospira. O imunocomplexo é então capturado na membrana pelo anticorpo anti-IgG humano pré-revestido formando uma linha G de cor vinho, indicando um resultado positivo para anticorpo IgG anti-*L. interrogans*.

Ausência de qualquer linhas de teste (M e G) sugere um resultado negativo. O teste contém um controle interno (linha C) que deve exibir uma linha cor vinho do imunocomplexo dos anticorpos de controle, independentemente do desenvolvimento de cor em qualquer uma das linhas de teste. Se a linha C não se desenvolve, o resultado do teste é inválido e a amostra deve ser testada novamente com outro dispositivo.

MATERIAIS E REAGENTES INCLUÍDOS

- Bolsas de alumínio lacradas individualmente contendo:
 - Um dispositivo cassete
 - Um dessecante
- Tubos capilares de 5 µL
- Diluyente de Amostra (REF SB-R0101, 5 mL/frasco)
- Um folheto Informativo (Instruções de Uso)

MATERIAIS QUE PODEM SER NECESSARIOS E NÃO ESTÃO INCLUÍDOS

- Controle Positivo
- Controle Negativo

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO INCLUÍDOS

- Relógio ou cronometro
- Dispositivo de punção (lancetas) para teste com Sangue Total

AVISOS E PRECAUÇÕES

Para uso de diagnóstico *in vitro*

- Esta folha deve ser lida completamente antes da realização do teste. O não cumprimento das instruções, pode levar a resultados de teste imprecisos.
- Não abra a bolsa lacrada a menos que esteja pronto para realizar o ensaio.
- Não utilize dispositivos fora do prazo de validade.
- Traga todos os materiais de ensaio à temperatura ambiente (15-30°C) antes do uso.
- Não use componentes de qualquer outro tipo de kit como um substituto para os componentes deste kit.
- Não use amostras de sangue hemolisado para o teste.
- Use roupas de proteção e luvas descartáveis ao manusear os reagentes do kit e amostras clínicas. Lave bem as mãos após a realização do teste.
- Os usuários deste teste devem seguir as precauções do Centro de Controle e Prevenções de Doenças Americano (CDC US) para a prevenção da transmissão do HIV, HBV e outras doenças transmitidas pelo sangue.
- Não fumar, beber ou comer em áreas onde amostras e reagentes dos kits estão sendo manipulados.
- Descartar todas as amostras e materiais utilizados na realização do teste como resíduos biológicos.

- Manipular os controles negativos e positivos da mesma forma que as amostras de pacientes.
- O resultado do teste deve ser lido em até 15-20 minutos após a aplicação da amostra ao poço de amostra do dispositivo. Qualquer resultado interpretado fora da janela de 15-20 minutos deve ser considerado inválido e deve ser repetido.
- Não realize o teste em uma sala com fortes correntes de ar, ou seja, um ventilador ou ar-condicionado forte.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM

Todos os reagentes estão prontos para uso conforme o fornecido. Armazene os dispositivos de teste fechados entre 2-30°C. Se armazenado a 2-8°C, certifique-se de que o dispositivo de teste é levado à temperatura ambiente antes de abrir. O dispositivo de teste é estável até a data de validade impressa na embalagem. Não congelar o kit ou expor o kit a temperaturas acima de 30°C.

COLETA E MANUSEIO DA AMOSTRA

Considere todos os materiais de origem humana infecciosos e trate-os usando procedimentos padrão de biossegurança.

Plasma/Soro

- Passo 1: Coletar amostras de sangue em tubo de coleta contendo EDTA, citrato ou heparina para plasma ou em tubo de coleta contendo anticoagulantes para soro por punção venosa.
- Passo 2: Para fazer uma amostra de plasma, centrifugar amostras coletadas e cuidadosamente separar o plasma para um novo tubo previamente rotulado.
- Passo 3: Para fazer uma amostra de soro, deixe o sangue coagular, então centrifugue a amostra coletada e cuidadosamente retire o soro para um novo tubo previamente rotulado.

Teste amostras assim que possível após a coleta. Armazene amostras em temperatura entre 2-8°C caso não seja possível testar imediatamente. As amostras devem ser armazenadas entre 2-8°C por até 5 dias. As amostras devem ser congeladas a -20°C caso seja necessário armazenar por mais tempo.

Evite múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento. Antes de testar, certifique-se de que as amostras lentamente atinjam a temperatura ambiente, e depois mexa-as com cuidado. Amostras contendo matéria particulada visível devem ser clarificadas por centrifugação antes do teste.

Não utilize amostras que demonstrem lipemia severa, hemólise severa ou turvação para evitar interferências com a interpretação do resultado do teste.

Sangue Total

- Passo 1: Gotas de sangue total podem ser obtidas por qualquer punção da ponta do dedo ou punção venosa. Colete as amostras de sangue em tubo de coleta contendo EDTA, citrato ou heparina. Não use sangue hemolisado para os testes.

Amostras de sangue total devem ser armazenadas em compartimento refrigerado (2-8°C), caso não seja possível testar imediatamente. As amostras devem ser testadas em até 24 horas da coleta.

PROCEDIMENTOS DE ENSAIO

- Passo 1: Colocar a amostra e componentes de teste à temperatura ambiente se refrigerado ou congelado. Quando a amostra é descongelada, homogeneizar bem antes de se realizar o ensaio.

- Passo 2: Quando estiver pronto para testar, abra a bolsa no entalhe e remova o dispositivo. Coloque o dispositivo de teste em uma superfície plana e limpa.

- Passo 3: Certifique-se de rotular o dispositivo com o número de identificação da amostra (ID).

- Passo 4: Encha o tubo capilar com 5 µL de amostra não ultrapassando a linha, como mostrado na imagem a seguir. O volume da amostra é de aproximadamente 5 µL. **Para obter o máximo de precisão, transferir a amostra, utilizando uma pipeta capaz de fornecer um volume de 5 µL.**

Segurando o tubo capilar na vertical, dispensar toda a amostra no centro do poço de amostra (**poço S**), certificando-se de que não existem bolhas de ar.

Imediatamente adicione 2 gotas (aproximadamente 60-80 µL) de diluyente de amostra no poço do tampão (**poço B**) com o frasco posicionado verticalmente.



- Passo 5: Marque o tempo.

- Passo 6: Resultados devem ser lidos em 15 minutos. Resultados positivos podem ser visíveis em apenas 1 minuto. Resultados negativos devem ser confirmados após 20 minutos. **Qualquer resultado interpretado fora da janela de 15-20 minutos deve ser considerado inválido e deve ser repetido. Descarte o dispositivo após a interpretação do resultado de acordo com as normas governamentais locais.**

CONTROLE DE QUALIDADE

- Controle Interno:** Este teste contém um recurso de controle interno, a linha C. A linha C desenvolve-se após a adição da amostra e do diluyente da amostra. Se a linha C não se desenvolver, reveja todo o procedimento e repita o teste com um novo dispositivo.
- Controle Externo:** Boas Práticas de Laboratório recomendam o uso de controles positivos e negativos externos para garantir o bom desempenho do ensaio, especialmente nas seguintes circunstâncias:
 - Um novo operador utilizando o kit, antes de testar as amostras.
 - Um novo lote de kits de teste é utilizado.
 - Uma nova remessa de kits de teste é utilizada.
 - A temperatura durante o armazenamento dos kits estava fora do intervalo de 2-30°C.
 - A temperatura da área de ensaio está fora do intervalo 15-30°C.
 - Verificar uma frequência maior do que a esperada de resultados positivos/negativos.
 - Para investigar a causa de repetidos resultados inválidos em sequência.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO ENSAIO

1. **RESULTADO NEGATIVO:** Se apenas a linha C está presente, a ausência de qualquer cor vinho em ambas as linhas de testes (M e G) indica que não foi detectado anticorpo anti-*L. interrogans* presente na amostra. O resultado é negativo ou não reativo.



2. **RESULTADO POSITIVO:**
 2.1 Se além da presença da linha C, somente a linha M se desenvolve, o teste indica a presença de IgM anti-*L. interrogans*. O resultado é IgM anti-*L. interrogans* positivo ou reativo.



- 2.2 Se além da presença da linha C, somente a linha G se desenvolve, o teste indica a presença de IgG anti-*L. interrogans*. O resultado é IgG anti-*L. interrogans* positivo ou reativo.



- 2.3 Se além da presença da linha C, ambas as linhas M e G se desenvolvem, o teste indica a presença de IgG e IgM anti-*L. interrogans*. O resultado é IgG e IgM anti-*L. interrogans* positivo ou reativo.



Amostras com resultados positivos ou reagentes devem ser confirmados com método(s) de ensaio alternativos e achados clínicos antes que um diagnóstico seja feito.

3. **INVÁLIDO:** Se a linha C não se desenvolve, o ensaio é inválido independentemente de qualquer cor vinho nas linhas de teste como indicado abaixo. Repita o ensaio com um novo dispositivo.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

1. **Exatidão**
 Amostras coletadas de pacientes suspeitos e indivíduos saudáveis foram estudadas. O Teste Rápido *OnSite* Leptospirese IgG/IgM Combo mostrou 100% especificidade e 100% de sensibilidade em comparação com outro Teste Rápido de referência no mercado.

2. **Reação Cruzada**
 Amostras de outras doenças infecciosas foram testadas para reatividade cruzada com o Teste Rápido *OnSite* Leptospirese IgG/IgM Combo de acordo com os procedimentos funcionais padrão. Os resultados mostraram que as seguintes amostras (n=3-10) não reagem de forma cruzada com o Teste Rápido *OnSite* Leptospirese IgG/IgM Combo.

HAV	HBV	HCV	HEV	<i>H. pylori</i>
hCG	HIV	Dengue	TB	<i>T. pallidum</i>
Tifóide	ANA	HAMA	RF (até 8400 IU/mL)	

3. **Interferências**
 Substâncias comuns (tais como medicação para dor, febre e componentes do sangue) podem afetar o desempenho do Teste Rápido *OnSite* Leptospirese IgG/IgM Combo. Este foi estudado pela adição dessas substâncias em amostras de controle padrão negativas e positivas. Os resultados são apresentados na tabela a seguir e demonstram que, nas concentrações testadas, as substâncias estudadas não afetam o desempenho do Teste Rápido *OnSite* Leptospira IgG/IgM Combo.

Lista de substâncias potencialmente interferentes e as concentrações testadas:

1. Albumina	60 g/L	6. Hemoglobina	2 g/L
2. Bilirrubina	20 mg/dL	7. Heparina	3000 U/L
3. Creatinina	442 µmol/L	8. IgG Humano	1000 mg/dL
4. EDTA	3,4 µmol/L	9. Ácido salicílico	4,34 mmol/L
5. Glicose	55 mmol/L	10. Citrato de Sódio	3.8%

LIMITAÇÕES DO TESTE

- O procedimento de ensaio e a interpretação dos resultados devem ser seguidos como descrito para testar a presença de anticorpos para o patógeno *L. interrogans* em soro, plasma ou sangue total de indivíduos. O não cumprimento do procedimento pode trazer resultados imprecisos.
- O Teste Rápido *OnSite* Leptospirese IgG/IgM Combo é limitado a detecção qualitativa de anticorpos para *L. interrogans* no soro, plasma ou sangue total humano. A intensidade da linha de teste não possui correlação linear com o título de anticorpos na amostra.
- Um resultado negativo para um indivíduo indica a ausência de anticorpos de *L. interrogans* detectáveis. No entanto, um resultado de teste negativo não exclui a possibilidade de exposição a *L. interrogans*.
- Um resultado negativo ou não-reativo pode ocorrer se o título de anticorpos contra *L. interrogans* presente na amostra estiver abaixo do nível detectável pelo ensaio ou se os anticorpos não estiverem presentes durante o estágio da doença no qual a amostra foi coletada.
- A infecção pode progredir rapidamente. Se os sintomas persistirem, mesmo se o resultado do Teste Rápido *OnSite* Leptospirese IgG/IgM Combo for negativo ou não reativo, é recomendado fazer o teste com métodos alternativos de ensaio.
- Algumas amostras contendo títulos de anticorpos heterófilos e fator reumatóide anormalmente altos podem afetar os resultados esperados.
- Dependendo dos sorotipos de *Leptospira* que circulam regionalmente e estiverem presentes no momento da coleta, a sensibilidade deste produto pode variar.
- Resultados obtidos com este teste só devem ser interpretados em conjunto com outros procedimentos diagnósticos e achados clínicos.

RISCO RESIDUAL

- O profissional de saúde ou usuário adequadamente treinado é responsável por executar ou supervisionar todos os aspectos do processo do teste, desde a coleta de amostra até sua interpretação.
- O profissional de saúde ou usuário treinado deve obter consentimento do paciente ao testar a amostra e o mesmo deve fornecer informações sobre as limitações do teste, o risco de resultados falso positivos e falso negativos, especialmente quanto o teste é feito logo após a possível exposição ao patógeno.
- Os resultados devem ser avaliados em função de uma avaliação clínica global pelo médico.
- O dispositivo de teste e seus reagentes não são fabricados a partir de agentes infecciosos ou expostos antes de sua utilização.
- Existe um risco mínimo de contaminação devido ao manuseio incorreto de resíduos com risco biológico que é a natureza intrínseca de manipulação de amostra de sangue em laboratório.

Apesar das limitações do teste, tem sido aceito que os benefícios a serem obtidos a partir do uso deste dispositivo de triagem de Leptospirese (ou seja, o aumento das taxas de teste) com sensibilidades e especificidades abaixo de 100% superam quaisquer efeitos indesejáveis decorrentes de sua utilização.

GARANTIA DA QUALIDADE

A Bio Advance obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas e em sua embalagem original;
- que o transporte seja realizado em condições adequadas;
- que o produto seja utilizado somente até a data de validade expressa na embalagem;
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser solicitados junto ao SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente, bem como em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, através do telefone (11) 3445-5418 / 2621-7171. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha de fabricação serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

DESCARTE DE PRODUTOS

O descarte de resíduos deve ser realizado pelos geradores de Resíduos de Serviços de Saúde (RSS) em conformidade com os requisitos estabelecidos pelos Órgãos estaduais, municipais e ambientais vigentes, além da Vigilância Sanitária.

REFERENCIAS

- Stallman GND. The International Committee on Systematic Bacteriology: Sub committee on the Taxonomy of Leptospira. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:472.
- Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14:296-326
- Ahmad SN, Shah S, Ahmad FMH. Laboratory diagnosis of Leptospirosis. J Postgrad Med 2005;51:195-200.
- Faine S, ed. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization, 1982.
- Cumberland PC, Everard COR, Levett PN. Assessment of the efficacy of the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. Am J Trop Med Hyg. 1999;61:731-734.
- Adler B, Murphy AM, Locarnini SA, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1980;11:452-457.
- Appassakij H, Silapojajakul K, Wansit R, et al: Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 1995;52:340.

Glossário de Símbolos

	Consulte as Instruções de uso		Uso somente de diagnóstico <i>in vitro</i>		Data de Validade
	Catálogo		Número Lote		Testes por kit
	Armazenar entre 2-30°C		Não reutilizar		
	Fabricante		Data de Fabricação		

Fabricado por:

CTK Biotech, Inc.
 13855 Stowe Drive,
 Poway, CA 92064, USA
 Tel: 858-457-8698
 Fax: 858-535-1739
 E-mail: info@ctkbiotech.com

Instalações do Fabricante:
 Beijing Genesee Biotech Inc.,
 #36 Yanqi Donger Road, Huairou Yanqi Industrial
 Development Zone, Beijing, China, 101407

PI-R0101C-BIO-PT Rev. FP
 Data de lançamento: 01-02-2019
 Versão Língua Portuguesa

Apenas para exportação. Revenda proibida nos EUA

Importado e Distribuído por:

Bio Advance
 Diagnósticos

Bio Advance Diagnósticos Ltda - EPP
 CNPJ 09.593.438/0001-03
 Rua: Anísio de Abreu, 236 - Parque Cisper
 CEP: 03817-020 - São Paulo/SP

POTENCIALMENTE INFECTANTE
CONSERVAR A TEMPERATURA 2°C A 30°C

[SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE]
 TELEFONE: 55 11 - 3445-5418 / 2621-7171
 www.bioadvancediag.com.br
 contato@bioadvancediag.com.br

Registro Anvisa MS:80524900053

Resp. Téc. Dr. Arnaldo Casé de Castro
 CRF/SP: 34.453