

MÉTODO

Teste imunocromatográfico.

FINALIDADE

O Leptospirese IgG/IgM Test Bioeasy é um ensaio imunocromatográfico de fase sólida, para detecção qualitativa de anticorpos IgG e IgM de *Leptospira interrogans* no soro ou plasma humano. Esse teste é indicado apenas para uso profissional e é uma ferramenta adicional no diagnóstico clínico laboratorial de pacientes com sintomas clínicos consistentes de leptospirese.

O Leptospirese IgG/IgM Test Bioeasy é capaz de detectar infecções causadas por *L. interrogans* sorovares: *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *canicola*, *australis*, *autumnalis*, *tarassovi*, *wolffi*, *pyrogenes*, *bataviae*, *georgia*, *grippotyphosa*, *ballum*.
Somente para diagnóstico de uso *in vitro*.

FUNDAMENTO

O Leptospirese IgG/IgM Test Bioeasy possui 3 linhas pré-revestidas, linha controle "C", linha teste "G" para detecção de anticorpos IgG anti-*Leptospira interrogans* e linha teste "M" para detecção de anticorpos IgM anti-*Leptospira interrogans* na superfície da tira teste. Essas linhas não são visíveis na janela de resultado antes da aplicação de qualquer amostra. A linha controle "C" é utilizada para controle do procedimento. Esta deverá sempre aparecer se o procedimento do teste estiver adequado e se o teste estiver funcionando corretamente. A linha teste "G" e a linha teste "M" estarão visíveis na janela de resultados quando houver quantidade suficiente de anticorpos IgG e IgM anti-*Leptospira interrogans* respectivamente na amostra testada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A leptospirese, uma das zoonoses mais difundidas no mundo, é endêmica no Brasil, sendo comum a ocorrência de surtos epidêmicos nas épocas de maior precipitação pluviométrica. Nos centros urbanos, a deficiência de saneamento básico constitui um fator essencial para a proliferação de roedores. Águas superficiais contaminadas com *Leptospira interrogans*, eliminadas pela urina de ratos infectados, são a principal via de transmissão da enfermidade para o homem e para os animais. O rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) é o principal responsável pela infecção humana, em razão de existir em grande número e da proximidade com seres humanos. A *L. interrogans* multiplica-se nos rins desses animais sem causar danos e é eliminada pela urina, às vezes por toda a vida do animal. A *L. interrogans* eliminada junto com a urina de animais sobrevive no solo úmido ou na água, que tenham pH neutro ou alcalino e não sobrevive em águas com alto teor salino. A *L. interrogans* penetra através da pele e de mucosas (olhos, nariz, boca) ou através da ingestão de água e alimentos contaminados. A presença de pequenos ferimentos na pele facilita a penetração, que pode ocorrer também através da pele íntegra, quando a exposição é prolongada. Os seres humanos são infectados casual e transitoriamente, e não tem importância como transmissor da doença. A transmissão de uma pessoa para outra é muito pouco provável. O tempo entre a exposição da pessoa à fonte de contaminação e o aparecimento dos sintomas é de 2 dias a 4 semanas. Geralmente, a doença apresenta febre e outros sintomas de forma brusca. A leptospirese pode ocorrer em duas fases. Após a primeira fase, com febre, calafrios, dor de cabeça, dor muscular, vômito, ou diarreia, o paciente pode se recuperar por um tempo, mas irá adoecer novamente. Se a segunda fase ocorrer, ela será mais severa e a pessoa pode ter falência renal ou hepática ou meningite. Essa fase também é chamada de doença de Weil. A doença continua por um período de poucos dias a 3 semanas ou mais. Sem tratamento, a recuperação pode durar vários meses.

As principais formas de identificar a leptospirese consistem nos métodos sorológicos, que detectam no sangue do paciente a presença de anticorpos contra as espécies de *Leptospira*, e na cultura de material coletado em condições ideais que permitam identificar a proliferação da bactéria.

PROPRIEDADES

Teste simples
Detecção precisa
Interpretação fácil
Resultados instantâneos

IDENTIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO

Dispositivos de teste selados em uma embalagem de alumínio com dessecante. O teste é sensível a umidade e ao calor. Conservar sob temperatura entre 15 a 30°C. Não se recomenda armazenar em refrigerador.

A data de validade encontra-se impressa na embalagem e no rótulo do produto.

CUIDADOS ESPECIAIS

Somente para o diagnóstico *in vitro*.

Não fumar, comer ou beber nas áreas onde as amostras são manuseadas.

Utilizar luvas descartáveis quando manusear as amostras e lavar as mãos após o teste.

Evitar respingos ou a formação de aerossol.

Todos os derramamentos devem ser completamente limpos com hipoclorito de sódio (10%), álcool 70% ou um desinfetante iodofórmio.

Descartar todas as amostras e materiais utilizados como se possuíssem agentes infecciosos. Os métodos de esterilização preferenciais são autoclavagem por 60 minutos a 121°C ou incineração.

Não misturar amostras diferentes.

Anticoagulantes como heparina, EDTA ou citrato de sódio não afetam o resultado do teste. A utilização de amostras hemolíticas, lipêmicas ou com a presença de fatores reumatóides podem causar resultados inconsistentes.

PRECAUÇÕES

Para obter resultados seguros seguir atentamente as instruções de uso.

Todas as amostras devem ser manuseadas como se fossem material potencialmente infeccioso.

Realizar o teste imediatamente após a retirada do dispositivo teste da embalagem de alumínio.

Não usar o kit após a data de validade impressa na embalagem e no rótulo do produto.

Não utilizar o teste caso a embalagem esteja danificada.

Não reutilizar o teste.

Quando utilizar amostras resfriadas ou congeladas, deixar que estas atinjam a temperatura ambiente antes de iniciar o procedimento, pois amostras em temperatura baixa podem reduzir a funcionalidade do teste. Recomenda-se deixar sob temperatura ambiente por cerca de 20 a 30 minutos antes da execução do ensaio.

Os componentes desse teste são submetidos ao controle de qualidade padronizado por grupo. Não misturar componentes de lotes com numeração diferente.

ESTABILIDADE

O Leptospirese IgG/IgM Test Bioeasy deve ser conservado em temperaturas entre 15° a 30°C.

Os reagentes são estáveis quando conservados nas condições recomendadas, até a data de validade impressa na embalagem e no rótulo do produto.

Não congelar o kit, pois pode ocasionar mau funcionamento.

O tampão diluente pode formar um precipitado branco leitoso quando armazenado em baixas temperaturas. Para dissolver o precipitado, aquecê-lo entre as mãos.

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for conservado nas condições estabelecidas e na sua embalagem original.

MATERIAIS NECESSARIOS E NAO FORNECIDOS

Recipiente para coleta da amostra

Pipeta

Cronômetro

COLETA DA AMOSTRA BIOLÓGICA

Seguir os procedimentos padrões clínicos para a coleta de amostra de soro ou plasma.

SORO

Coletar o sangue total por punção arterial ou venosa em tubo de coleta sem anticoagulante. Deixar em repouso por 30 minutos para ocorrer a coagulação e então centrifugar a amostra para obter somente o soro.

PLASMA

Coletar o sangue total em tubo de coleta contendo anticoagulante como heparina, EDTA ou citrato de sódio por punção arterial ou venosa e então centrifugar para obter somente o plasma sanguíneo.

Evitar utilizar amostras turvas que possam estar contaminadas por microorganismos. Amostras de soro ou plasma contendo precipitado podem ocasionar resultados inconsistentes. As amostras devem ser clarificadas antes da realização do ensaio.

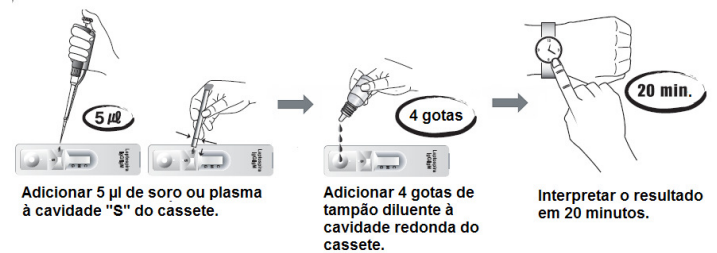
Caso o soro ou o plasma não sejam testados imediatamente, deve-se refrigerar a amostra sob temperatura entre 2 a 8°C. Para períodos de armazenamento maiores que 2 semanas, o congelamento é recomendado. As amostras devem ser trazidas à temperatura ambiente entre 15 a 30°C antes do uso. Qualquer sedimento nas amostras de soro deve ser removido por centrifugação.

PROCEDIMENTO

Ler o procedimento por inteiro e cuidadosamente antes de iniciar o teste.

Manter a amostra à temperatura ambiente (15 a 30°C) antes do teste.

- 1) Remover o dispositivo teste da embalagem de alumínio e colocar sobre uma superfície seca e plana.
- 2) Utilizando uma micropipeta ou a pipeta capilar que acompanha o teste, adicionar 5µL de soro ou plasma na cavidade quadrada do cassete identificada com a letra "S".
- 3) Adicione 4 gotas de tampão diluente à cavidade redonda do cassete.
- 4) Interpretar o resultado de teste em 20 minutos. Não interpretar após 20 minutos.


INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

NÃO REAGENTE: A presença de uma única linha, a linha controle "C", na janela de resultado indica um resultado NÃO REAGENTE como indicado na ilustração.


IgG REAGENTE

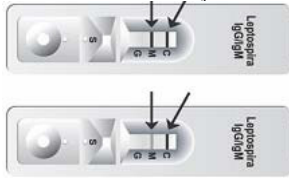
Quando aparecer duas linhas coloridas na janela de resultados, linhas controle "C" e linha teste "G" respectivamente como indicadas na ilustração.



NOTA: A intensidade da cor das linhas controle "C" e teste "G" pode ser diferente, ou seja, a linha controle "C" poderá ser mais fraca que a linha teste "G" ou vice-versa. Considerar o resultado REAGENTE em qualquer situação.

IgM REAGENTE

Quando aparecer duas linhas coloridas na janela de resultados, linhas controle "C" e linha teste "M" respectivamente como indicadas na ilustração.



NOTA: A intensidade da cor das linhas controle "C" e teste "M" pode ser diferente, ou seja, a linha controle "C" poderá ser mais fraca que a linha teste "M" ou vice-versa. Considerar o resultado REAGENTE em qualquer situação.

IgG e IgM REAGENTES

Quando aparecer três linhas coloridas na janela de resultados, linhas controle "C", linha teste "G" e linha teste "M" respectivamente como indicadas na ilustração.



INVÁLIDO: Quando a linha controle "C" não aparecer na janela de resultados dentro de 20 minutos. O teste deve ser considerado INVÁLIDO. Repetir o teste com um novo dispositivo e com uma nova amostra. As principais causas de resultados inválidos são o uso incorreto do kit e/ou a utilização de teste vencido. Neste caso um novo dispositivo deve ser utilizado seguindo corretamente as instruções de uso.



LIMITAÇÕES

Esse teste detecta a presença de anticorpos IgG e IgM de *Leptospira interrogans* na amostra e não deve ser usado como critério básico para diagnóstico da leptospirose.

Como todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser considerados com outras informações clínicas obtidas pelo médico.

Se o resultado do teste for não reagente e os sintomas clínicos persistirem, testes adicionais subsequentes usando outros métodos clínicos são recomendados. Resultados não reagentes também não impedem a possibilidade de uma infecção por *Leptospira interrogans*.

DESEMPENHO DO TESTE

Para avaliar o desempenho do teste foram utilizadas 45 amostras positivas e 100 amostras negativas para o anticorpo *Leptospira* confirmadas por teste de aglutinação microscópica (MAT). Estas amostras foram testadas com o Leptospire IgG/IgM Test Bioeasy e outro kit comercial - PHA (Fabricante: Green Cross, Sang-A: Lepto PHA). O MAT caracterizou amostras de soro incluindo 45 amostras soropositivas e 100 amostras soronegativas para leptospira. Os resultados estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1: Sensibilidade e Especificidade da Leptospire IgG/IgM Test Bioeasy

Caracterização do Soro	Leptospire IgG/IgM Test Bioeasy			PHA Comercial		
	Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total
Soropositivo	44	1	45	42	3	45
Soronegativo	5	95	100	5	95	100
Total	49	96	145	47	98	145

Sensibilidade = $44/45 = 97.7\%$

Especificidade = $95/100 = 95\%$

Concordância = $139/145 = 95.9\%$

APRESENTAÇÃO DO KIT

- 1) Dispositivo de teste – 1 x 1
- 2) Tampão diluente – 1 x 5,0 ml
- 3) Instruções de uso – 1
- 4) Coletor capilar 5µL – 1 x 1

Nº. de testes: 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 e 100 respectivamente.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE

Para esclarecimentos de dúvidas do cliente quanto ao produto:

Telefax: (31) 3048-0008

E-mail: bioeasy@bioeasy.com.br

Data de fabricação, data de validade, nº. do lote, vide rótulo do produto.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Henk L et al. Lateral-Flow Assay for Rapid Serodiagnosis of Human Leptospirosis. Clin Diagn Lab Immunol 2001 vol 8
- 2) Bajani MD et al. Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. J Clin Microbiol. 2003 Feb ;41(2):803-9
- 3) Ryu E. Rapid microscopic agglutination test for *Leptospira* without non-specific reaction. Bull Off Int Epizoot. 1970 Jan-Feb;73(1):49-58
- 4) Solorzano RF. A comparison of the rapid macroscopic slide agglutination test with the microscopic slide agglutination test for leptospirosis. Proc Annu Meet U S Anim health Assoc. 1964;68:440-4
- 5) Terpstra WJ, Ligthart GS, Schoone GJ. ELISA for the detection of specific IgM and IgG in human leptospirosis. J Gen Microbiol. 1985 Feb;131(Pt2):377-85.
- 6) Smits HL et al Lateral-flow assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. Clin Diagn Lab Immunol. 2001 Jan;8(1):166-9

7) Smits HL et al. Latex based, rapid and easy assay for human leptospirosis in a single test format. Trop Med Int Health. 2001 Feb;6(2):114-8

PRODUZIDO PARA

Produzido para BIOEASY DIAGNOSTICA LTDA, situada à Avenida Barão Homem de Melo, 567. Bairro Nova Granada, Belo Horizonte – MG. CEP: 30.431-285 TELEFAX: (31) 3048-0008 - CNPJ 02.719.715/0001-24. Farmacêutico Responsável: Vinicius Silva Pereira CRF-MG 19.800 - Autorização do MS 103.746-6. Produzido por SD, Inc. 575-34 Pajang-dong, Jangan-ku, Suwon-si, Kyonggi-do, Korea. Registro MS. Nº. 10374660120.

TERMO DE GARANTIA

A Bioeasy Diagnóstica Ltda se responsabiliza por este kit de diagnóstico, desde que o mesmo esteja com sua integridade física inabalada e dentro do prazo de validade, seguido de comprovação pela assessoria técnica de que não houve falhas na execução, manuseio ou conservação deste produto. A Bioeasy Diagnóstica Ltda e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.