

11. Esperar 5 minutos. As linhas azuis e verdes da janela devem desaparecer. Se não desaparecerem deve-se descartar o dispositivo de teste e repetir o procedimento com um novo dispositivo de teste DPP®.

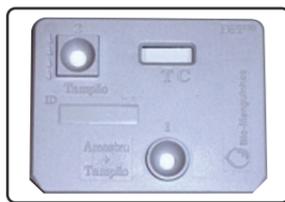


Figura 6

Inverter o frasco do Tampão e mantê-lo na vertical (não na diagonal) sobre o Poço 2 “Tampão”. Lentamente, adicionar 4 gotas (135 µL) de tampão de corrida (Figura 7).



Figura 7

12. Ler o resultado do teste de 10 a 15 minutos após a adição de tampão de corrida no Poço 2.

Em alguns casos, uma linha de teste pode aparecer em menos de 10 minutos após a adição do tampão, no entanto, são necessários 10 minutos para relatar um resultado não reagente. Não leia os resultados após 20 minutos do início do teste (início do teste = primeira adição de tampão adicionado ao Poço 1).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

Leitura Visual

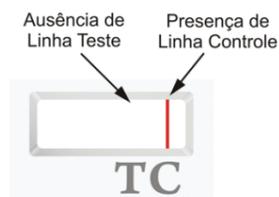
Colocar o suporte sobre uma superfície plana e em local bem iluminado. O operador deve se posicionar de forma a manter uma distância de 30 cm a 50 cm entre o suporte de teste e seus olhos. Observar a presença de linhas e anotar no protocolo de testes.

Leitura com Equipamento – Leitor de Testes DPP®

Seguir as instruções de uso do equipamento para obtenção do resultado.

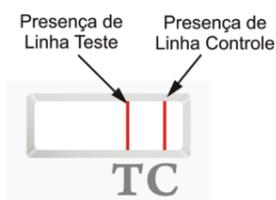
Não Reagente

Um resultado não reagente é indicado por uma linha roxa/ rosa na área de CONTROLE (C), e nenhuma linha na área de TESTE (T). Um resultado não-reagente indica a ausência de anticorpos específicos para Leptospira na amostra, porém não exclui a possibilidade do indivíduo que tenha tido contato recente com o antígeno específico ter infecção por *Leptospira* devido à janela imunológica.



Reagente

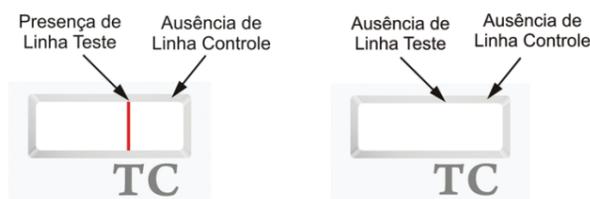
A detecção de duas linhas roxa/ rosa, uma na área de CONTROLE (C) e a outra na área de TESTE (T), indica um resultado reagente.



NOTA: A intensidade das linhas TESTE e CONTROLE podem variar conforme concentração de anticorpos específicos. Mesmo uma linha muito clara nas áreas TESTE e CONTROLE deve ser considerado resultado reagente.

Inválido

Uma linha roxa/rosa deve sempre aparecer na área CONTROLE (C), não importando se a linha TESTE (T) aparece ou não na área devida. Caso uma linha roxa/ rosa não seja visível na área CONTROLE (C), o teste deve ser considerado inválido. Um resultado inválido indica um problema na execução do teste ou também pode ser referente à um problema no dispositivo. Caso isso ocorra, descartar o material e repetir o teste com um novo dispositivo e/ou com uma nova amostra.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Amostras Caracterizadas

- 167 amostras caracterizadas foram testadas em Bio - Manguinhos com o teste DPP® Leptospirose e lidas tanto visualmente como com o leitor DPP® de mesa. As amostras foram caracterizadas pela Fiocruz com MAT (Teste de Aglutinação Microscópica) e ELISA. O corte do leitor foi 30.

TIPO DE AMOSTRA	Nº AMOSTRAS	DESEMPENHO	ESPECIFICAÇÃO
AGUDA – ATÉ 7 DIAS	25	SENSIBILIDADE = 76.0%	SENSIBILIDADE ≥ 50%
AGUDA – DE 7 A 14 DIAS	27	SENSIBILIDADE = 81.5%	SENSIBILIDADE ≥ 80%
CONVALESCENTE MAIS DE 14	75	SENSIBILIDADE = 97.3%	SENSIBILIDADE ≥ 95%
SAUDÁVEL DE ÁREA ENDÊMICA	40	ESPECIFICIDADE = 97.5%	ESPECIFICIDADE ≥ 95%

Amostras Cegas

- 30 amostras cegas de Salvador foram testadas por Bio - Manguinhos, no Rio de Janeiro. Os resultados dos testes só foram interpretados visualmente e nenhum leitor foi utilizado. Além disso, cada amostra foi executada duas vezes por dois operadores diferentes. O MAT foi utilizado como referência.

TIPO DE AMOSTRA	Nº AMOSTRAS	DESEMPENHO	ESPECIFICAÇÃO
SAUDÁVEL DE ÁREA ENDÊMICA	15	ESPECIFICIDADE = 100%	ESPECIFICIDADE ≥ 95%
AGUDA	15	SENSIBILIDADE = 86.6%	SENSIBILIDADE ≥ 80%

REFERÊNCIAS

- Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14:296-326
- Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis 2003;3:757-71
- McBride AJ, Athanazio DA, Reis MG and Ko AI. Leptospirosis. Curr Opin Infect Dis 2005;18:376-86
- Faine SB, Adler B, Bolin C and Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis. 2nd ed. Melbourne, Australia: MedSci, 1999
- Ko AI, Galvao Reis M, Ribeiro Dourado CM, Johnson WD, Jr. and Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. Lancet 1999;354:820-5
- McClain JB, Ballou WR, Harrison SM and Steinweg DL. Doxycycline therapy for leptospirosis. Ann Intern Med 1984;100:696-8
- Watt G, Padre LP, Tuazon ML, et al. Placebo-controlled trial of intravenous penicillin for severe and late leptospirosis. Lancet 1988;1:433-5
- Panaphut T, Domrongkitchaiporn S, Vibhagool A, Thinkamrop B and Susaengrat W. Ceftriaxone compared with sodium penicillin G for treatment of severe leptospirosis. Clin Infect Dis 2003;36:1507-13
- Suputtamongkol Y, Niwattayakul K, Suttinont C, et al. An open, randomized, controlled trial of penicillin, doxycycline, and cefotaxime for patients with severe leptospirosis. Clin Infect Dis 2004;39:1417-24
- Flannery B, Pereira MM, de FVL, et al. Referral pattern of leptospirosis cases during a large urban epidemic of dengue. Am J Trop Med Hyg 2001;65:657-663
- Vinetz JM. Leptospirosis. Current Opinion in Infectious Diseases 2001;14:527-538
- Faine S, WHO. Guidelines for the control of leptospirosis. WHO offset publication; no. 67. Geneva: World Health Organization, 1982:171
- WHO. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. Geneva: World Health Organization & International Leptospirosis Society, 2003:122
- Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, et al. Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. J Clin Microbiol 2003;41:803-9
- Levett PN, Branch SL. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assay methods for detection of immunoglobulin M antibodies in acute leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 2002;66:745-8
- Sehgal SC, Vijayachari P, Sugunan AP and Umapathi T. Field application of Lepto lateral flow for rapid diagnosis of leptospirosis. J Med Microbiol 2003;52:897-901
- Smits HL, Chee HD, Eapen CK, et al. Latex based, rapid and easy assay for human leptospirosis in a single test format. Trop Med Int Health 2001;6:114-118
- Smits HL, Eapen CK, Sugathan S, et al. Lateral-flow assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. Clin Diagn Lab Immunol 2001;8:166-9
- Vijayachari P, Sugunan AP and Sehgal SC. Evaluation of Lepto Dri Dot as a rapid test for the diagnosis of leptospirosis. Epidemiol Infect 2002;129:617-21
- Matsuo K, Isogai E and Araki Y. Utilization of exocellular mannan from Rhodotorula glutinis as an immunoreactive antigen in diagnosis of leptospirosis. J Clin Microbiol 2000;38:3750-4
- Lupidi R, Cinco M, Balzini D, Delprete E and Varaldo PE. Serological follow-up of patients involved in a localized outbreak of leptospirosis. J Clin Microbiol 1991;29:805-9
- Truccolo J, Serais O, Merein F and Perolat P. Following the course of human leptospirosis: Evidence of a critical threshold for the vital prognosis using a quantitative PCR assay. FEMS Microbiology Letters 2001;204:317-21

RAZÃO SOCIAL DO FABRICANTE E SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR:

Registro MS 80142170027

Responsável técnico: Edmilson Domingos da Silva, CRBio-2 RJ/ES n°: 21433-02.

Fabricante Legal:

Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz

Av. Brasil, 4365 – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro – RJ

CNPJ 33.781.055/0001-35 – Indústria Brasileira

Unidade Fabril:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos

Av. Brasil,4365-Manguinhos-CEP: 21040-900- Rio de Janeiro - RJ

CNPJ; 33.781.055/0015-30-Industria Brasileira.

Orientações técnicas adicionais a respeito deste produto poderão ser obtidas junto ao:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos | Bio-Manguinhos | Fiocruz

Av. Brasil, 4365 – Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 21040-900

CNPJ: 33.781.055/0001-35

SAC: 08000.210.310 | sac.reativos@bio.fiocruz.br | www.bio.fiocruz.br

PROIBIDA VENDA AO COMÉRCIO

Aprovação da Arte: maio/2023

Arte: BM-BUL-060-05-R-56505

Substituí DI 6190 REV. 03

Texto: MI_TR DPP LEPTO_009 (TME0025_001MAN)



TR DPP® LEPTOSPIROSE Bio-Manguinhos

TESTE RÁPIDO PARA TRIAGEM QUALITATIVA DE
ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA *LEPTOSPIRA* EM SORO,
PLASMA OU SANGUE TOTAL HUMANO
(material fornecido para 20 determinações)
Estocar de 2 °C a 30 °C



TR DPP® LEPTOSPIROSE Bio-Manguinhos

TESTE RÁPIDO PARA TRIAGEM QUALITATIVA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA LEPTOSPIRA EM SORO, PLASMA OU SANGUE TOTAL HUMANO (material fornecido para 20 determinações) Estocar de 2 °C a 30 °C

INDICAÇÃO DE USO:

O TR DPP® Leptospirose - Bio-Manguinhos é um teste rápido imunocromatográfico de uso único para a detecção de anticorpos específicos para *Leptospira* no sangue total, soro ou plasma humano. O teste rápido é uma ferramenta de atendimento em campo para diagnóstico, fácil de usar. Os resultados podem ser interpretados visualmente ou, se necessário, de forma mais objetiva, utilizando um leitor automático. O teste tem validade de até 24 meses quando armazenado em temperatura adequada. Fazer o diagnóstico imediato, enquanto o paciente ainda está no local (hospital ou consultório médico) irá fornecer um benefício claro: o paciente pode detectar a doença na fase inicial e começar o tratamento, levando a melhor resposta do tratamento.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS:

A Leptospirose pode representar risco à vida em uma série de situações epidemiológicas [1-3]. O agente é uma bactéria espiroqueta geneticamente e antigenicamente diversificado. Existe um grupo de oito espécies de Leptospira e mais de 200 sorotipos [1, 4]. A doença é considerada a zoonose mais difundida no mundo [1], devido à capacidade do patógeno de usar como reservatório uma grande variedade de animais domésticos e silvestres. A Leptospira se estabelece no túbulos renais e persiste por semanas a meses no ambiente após a excreção do hospedeiro [1, 4]. A transmissão para humanos ocorre durante o contato com animais reservatórios ou em um ambiente contaminado com urina. A infecção produz um amplo espectro de manifestações clínicas de uma doença auto-limitada febril para a doença de Weil, a forma clássica da leptospirose grave que se caracteriza por icterícia, insuficiência renal aguda e hemorragia.

A prioridade da saúde pública é prevenir consequências graves decorrentes da leptospirose. Até o momento, não há nenhuma prevenção eficaz contra a leptospirose. Os esforços para erradicar as fontes de transmissão ambiental e controle de reservatórios animais foram uniformemente vencidos [3]. Assim, o diagnóstico oportuno e rápido início da antibioticoterapia são a intervenção fundamental na prevenção de desfechos graves antes que elas se desenvolvam. A terapia antimicrobiana tem se mostrado eficaz na leptospirose [6-9], mas oferece maior benefício quando iniciada no princípio da doença [3, 4], antes do desenvolvimento de complicações graves.

No entanto, a leptospirose em fase precoce (aproximadamente 1º - 7º dia de sintomas) tem uma apresentação não-específica e, muitas vezes começa como uma doença febril indiferenciada [2,9]. O diagnóstico clínico tornou-se um problema cada vez mais crítico em regiões onde a dengue e outras doenças infecciosas com manifestações similares são endêmicas [5, 10]. Assim, a identificação e o tratamento eficazes da leptospirose depende de um índice elevado da suspeita clínica [11] e preciso teste rápido diagnóstico de campo [3].

O diagnóstico da leptospirose, no entanto, continua a depender de métodos laboratoriais antiquados e inadequados. O teste de microaglutinação (MAT) exige amostras de soros pareadas (fase aguda e convalescente) e exame de campo microscópico de aglutinação sorológica com culturas vivas de Leptospira [1, 4, 12, 13]. A dependência do MAT é uma das principais causas da subnotificação, mas continua a ser o teste padrão, pois os kits comerciais de ELISA ou testes rápidos não atingiram níveis adequados de desempenho. Todos os testes atuais de Leptospira demonstraram baixa sensibilidade (39-72%) durante a fase aguda [14, 15-19] (revisto em [3]). Além disso, a sensibilidade pode ser inferior a 25% na primeira semana da doença, que é a janela de oportunidade para o tratamento com terapia antimicrobiana [3]. Todos os testes atuais de Leptospirose, independentemente da plataforma de diagnóstico, demonstraram o desempenho com características similares [3], provavelmente porque estes testes detectam anticorpos IgM contra um epítopo de carboidratos, “antígeno reativo amplo” [20], que persistem por anos após a exposição [21, 22]. Tecnologias de imunoenaios mais avançados, tais como DPP®, podem oferecer melhores testes de diagnóstico.

PRINCIPIO DO TESTE:

O teste DPP® Leptospirose emprega um coquetel de três antígenos cuidadosamente selecionados e uma combinação de duas partículas de ouro coloidal conjugados com uma proteína humana e anti-IgM, respectivamente. A amostra é aplicada à janela “Amostra + Tampão” assim como o tampão. O tampão facilita o fluxo lateral da amostra diluída ao longo da membrana S1 para os antígenos impresso na membrana S2. Se os anticorpos para Leptospira estiverem presentes, eles se ligam aos antígenos imobilizados. Em seguida o tampão é adicionado na janela “Tampão” para permitir que o conjugado com partículas de ouro migrem ao longo da membrana S2 e sejam capturados pelo complexo antígeno-anticorpo (se houver), produzindo uma linha rosa/roxa na área TESTE. Na ausência de anticorpos contra Leptospira, não aparecerá uma linha rosa/roxa na área de TESTE (T). As partículas de ouro conjugado continuam a migrar ao longo da membrana S2 e produzem uma linha rosa/roxa na área de controle (C). Este controle processual serve para demonstrar que a amostra e os reagentes foram devidamente aplicadas e migraram através do dispositivo.

APRESENTAÇÃO DO PRODUTO:

O Kit TR DPP® Leptospirose - Bio-Manguinhos é fornecido na apresentação:

TR DPP® Leptospirose - Bio-Manguinhos (para 20 determinações).

MATERIAL FORNECIDO:

- Suportes DPP® Leptospirose com antígeno de *Leptospira*, embalados individualmente - 20 unidades
- Tampão de corrida - 01 frasco com 6 mL
- Tubo coletor Microsafe® (10 µL) - 20 unidades
- Lancetas descartáveis - 20 unidades
- Curativo Adesivo - 20 unidades
- Manual de Instrução de Uso – 01 unidade

MATERIAL COMPLEMENTAR NÃO FORNECIDO:

- Cronômetro ou relógio
- Pipetador calibrado para 5 µL (soro ou plasma) ou 10 µL (sangue venoso)
- Álcool estéril (unicamente para amostras obtidas por punção digital)
- Recipiente seguro para descarte de material biológico
- Gaze estéril
- Luvas descartáveis
- Anti – séptico

CONSERVAÇÃO E ESTOCAGEM DO MATERIAL:

O Kit TR DPP® Leptospirose - Bio-Manguinhos deve ser armazenado entre 2 °C e 30 °C. Recomenda-se a conservação do Kit em geladeira somente em locais onde a temperatura ambiente ultrapasse 30 °C. Não congele o Kit ou seus componentes. Os suportes de teste devem permanecer lacrados até o momento de sua utilização. O tampão de corrida deve ser mantido em seu recipiente original. Caso o Kit seja guardado sob refrigeração assegurar-se de que todos os componentes estejam à temperatura entre 15 °C e 25 °C no momento de sua utilização.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES:

Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.

Este conjunto diagnóstico contém produtos biológicos e químicos podendo representar uma fonte de risco. Ao manusear este conjunto, observar as precauções de biossegurança necessárias.

A qualidade dos resultados obtidos com este conjunto diagnóstico depende do cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, tais como:

O teste deve ser realizado apenas por profissionais de saúde, segundo as instruções contidas neste manual.

Não realizar mais de 5 testes por vez. Esta conduta reduz falhas no procedimento do teste, bem como na interpretação dos resultados;

- As amostras, assim como outros insumos, devem ser estocadas e manipuladas adequadamente;
- As amostras devem ser homogeneizadas antes do uso;
- As amostras de sangue total, soro e plasma que não forem testadas imediatamente após a coleta devem ser refrigeradas entre 2 °C e 8 °C, podendo ser usadas em até 3 dias;
- Amostras de soro ou plasma podem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C por 3 dias após a coleta, até que sejam utilizadas no teste. Caso a realização do teste não seja possível dentro deste período, as amostras devem ser congeladas (-20 °C ou abaixo);
- Nunca congele amostras de sangue total ;
- Equipamentos de proteção individual (EPI), tais como luvas descartáveis e jaleco, devem ser utilizados em todas as etapas de realização do teste;
- Os testes nunca devem ser utilizados após a data de validade;
- Não utilizar componentes de lotes diferentes;
- A integridade dos componentes do Kit sempre deve ser verificada. Em especial, assegurar-se de que a embalagem dos suportes esteja intacta. Caso algum dos componentes do Kit demonstre irregularidade, separe o Kit evitando que seja utilizado e entre em contato com o SAC de Bio-Manguinhos;
- Nunca fracionar os Kits.

- Não adicionar volumes de amostra superiores ao preconizado (10 µL para sangue e 5 µL para soro/plasma);
- Não pingar sangue diretamente da ponta do dedo no suporte de teste. Utilizar sempre o tubo coletor Microsafe® fornecido no Kit, segundo as orientações abaixo (ver Procedimento do Teste);
- Cuidado ao adicionar a amostra: o frasco de tampão de corrida deve ser mantido em posição vertical e a amostra deve ser aplicada ao centro do orifício ou poço 1 do suporte de teste;
- Aguardar 5 minutos e somente após o desaparecimento das cores das linhas T (TESTE) e C (CONTROLE) adicionar quatro gotas do tampão de corrida ao poço 2.

ATENÇÃO:

I – O tubo coletor Microsafe® apenas pode ser utilizado para coleta de sangue; para testar soro ou plasma deve-se utilizar um pipetador calibrado.

II - alguns resultados reagentes podem aparecer em menos de 10 minutos, mas são necessários 10 minutos para detectar um resultado não-reagente. Ler os resultados em ambiente bem iluminado. Não ler os resultados após 25 minutos da adição do tampão de corrida ao poço 2.

-Após o uso, suportes, ponteiras, lancetas, tubo coletor e luvas devem ser descartadas em água sanitária ou em solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

COLETA DE AMOSTRA:

O TR DPP® Leptospirose pode ser realizado com amostras de soro, plasma, ou sangue total humano obtido por punção digital ou punção venosa.

Sangue Total de Punção Digital

Segundo procedimentos normais de laboratório, perfurar a extremidade do dedo e descartar a primeira gota de sangue. Coletar a amostra da segunda gota utilizando o tubo coletor fornecido. Seguir as instruções de procedimento do teste.

Sangue Total Venoso

Segundo procedimentos normais de laboratório, retirar sangue venoso. Dependendo do uso previsto, transferir a amostra para um tubo contendo EDTA, heparina ou citrato de sódio. Assegurar que o tubo contendo o sangue está bem homogeneizado antes de realizar a amostragem. Seguir as instruções de procedimento do teste.

Soro ou Plasma

Soro: Coletar o sangue total sem anticoagulante, esperar 30 minutos para que o sangue coagule. Centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos e separar o soro do sobrenadante.

Plasma: Coletar o sangue total com anticoagulante (heparina, citrato ou EDTA), centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos e separar o plasma do sobrenadante

Segundo procedimentos normais de laboratório, transferir o soro ou plasma (EDTA) para um recipiente limpo. Seguir as instruções de procedimento do teste.

Todas as amostras devem ser testadas imediatamente após a coleta. Quando não testadas imediatamente, estas amostras devem ser refrigeradas entre 2 e 8 °C logo após a coleta, podendo ser usadas em até 3 dias após coleta. Amostras de soro ou plasma devem ser congeladas a -20°C ou menos caso os testes não sejam realizados em até 3 dias após a coleta. **NÃO CONGELAR SANGUE TOTAL!**

Transporte de Amostras

Se as amostras tiverem que ser transportadas, devem ser embaladas em conformidade com os regulamentos para o transporte de agentes etiológicos. Amostras de soro, sangue e plasma devem ser enviadas refrigeradas com compressas frias ou gelo triturado.

CONFIRMAÇÃO DO DESEMPENHO DO TESTE

Ao término do teste, uma linha rosa/ roxa aparecerá na área de CONTROLE (C) do dispositivo de teste, tanto nas amostras não reagentes (negativas) quanto nas reagentes (positivas). Esta linha serve de controle incorporado confirmando o acréscimo de amostra e o desempenho adequado do teste. Linhas rosa/ roxa em ambas as áreas de TESTE (T) e CONTROLE (C) indicam uma amostra reagente (positiva).

PROCEDIMENTO PARA REALIZAÇÃO DO TR DPP® LEPTOSPIROSE - BIO-MANGUINHOS:

1. Certificar-se de que a amostra a ser testada esteja a temperatura entre 15 e 25 °C. Caso a amostra esteja refrigerada ou congelada, permitir que alcance essa temperatura antes de ser testada.

2. Retirar o número de componentes do Kit TR DPP® Leptospirose necessários e colocá-los sobre uma superfície plana.

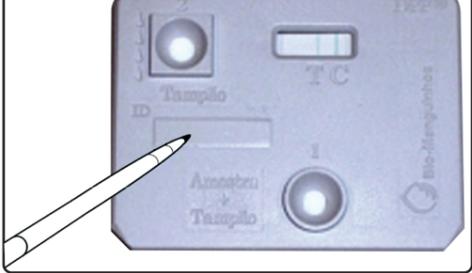


Figura 1

NOTA: Não é recomendado realizar mais de cinco testes ao mesmo tempo.

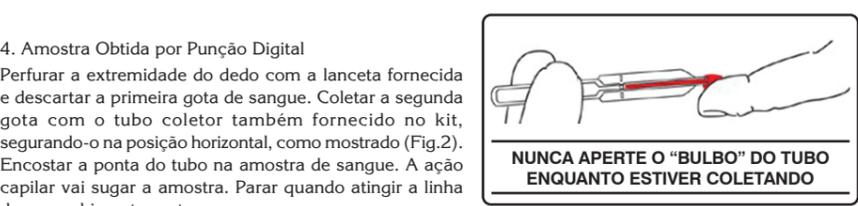


Figura 2

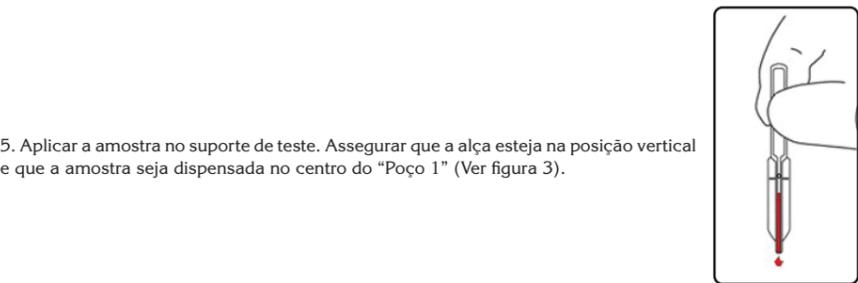


Figura 3

6. Apertar o bulbo do tubo coletor até a última gota de sangue sair diretamente no poço 1 “AMOSTRA + TAMPÃO”.

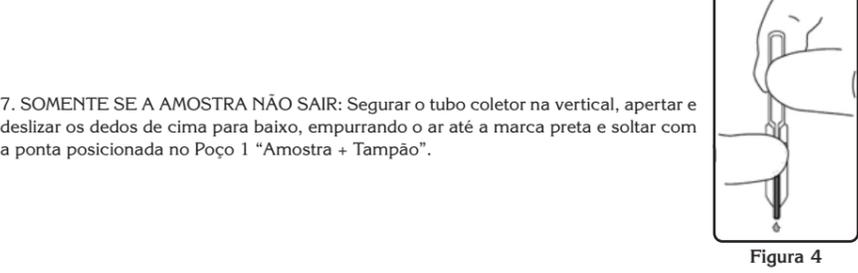


Figura 4

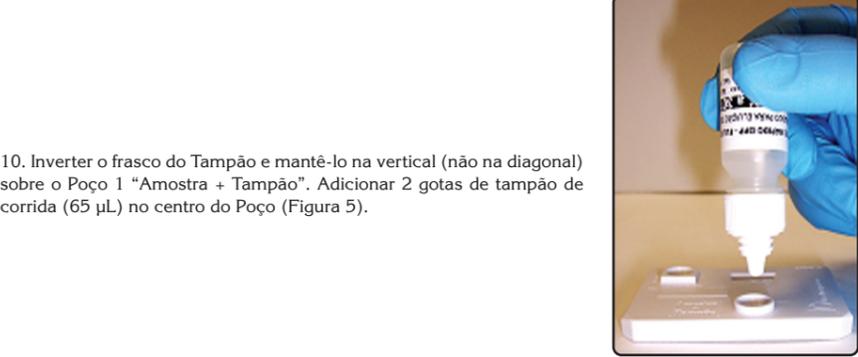
8. Amostras de Sangue Venoso, Soro ou Plasma

Se a amostra escolhida for outra que não sangue por punção digital, use uma pipeta de laboratório calibrada para obter a quantidade necessária de amostra.

- Soro ou Plasma - 5 µL
- Sangue Total - 10 µL

NOTA: Descartar todo o material utilizado no teste em recipiente apropriado para descarte de risco biológico.

9. Transferir a quantidade necessária de soro, plasma ou sangue total para o centro do poço “Amostra + Tampão” do dispositivo



10. Inverter o frasco do Tampão e mantê-lo na vertical (não na diagonal) sobre o Poço 1 “Amostra + Tampão”. Adicionar 2 gotas de tampão de corrida (65 µL) no centro do Poço (Figura 5).

Figura 5