

COVID-19 IgG/IgM ECO Teste - TR.0079



O COVID-19 IgG/IgM ECO Teste é um teste rápido imunocromatográfico para a detecção qualitativa, específica e diferencial de anticorpos IgG e IgM anti-COVID-19, presente em amostras humanas de sangue total, soro ou plasma. Esse teste *in vitro* pode ser aplicado como auxiliar no diagnóstico e triagem precoce da infecção pelo COVID-19 em pacientes com sintomas clínicos da doença.

Sumário e Explicação do Teste

Os coronavírus se agrupam em uma grande família de vírus envelopados de RNA, capazes de infectar seres humanos e outros mamíferos, além de aves, causando doenças respiratórias, entéricas, hepáticas e neurológicas. Nos seres humanos, seis espécies são conhecidas por causarem doenças em indivíduos imunocompetentes: quatro causando doenças como um resfriado comum, enquanto as outras duas relacionadas a acometimentos mais graves, a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e a Síndrome Respiratória Grave Aguda (SARS-CoV). A Organização Mundial de Saúde (OMS) anunciou em 31/12/2019 o primeiro surto de um novo coronavírus (COVID-19) em Wuhan, na China. Os coronavírus são zoonóticos, podendo ser transmitidos entre seres humanos e outros animais. O sinais clínicos da infecção por COVID-19 incluem sintomas respiratórios comuns, como febre, tosse, falta de ar e dificuldades respiratórias. Casos mais graves da infecção podem levar a pneumonia, síndrome respiratória aguda, falha renal e até a morte. Recomendações para prevenção da disseminação da doença incluem lavar as mãos com sabão, cobrir nariz e boca ao tossir e espirrar e cozinhar propriamente carnes e ovos, além de evitar contato com pessoas apresentando sintomas de doenças respiratórias como tosse e espirros.

Princípio do Teste

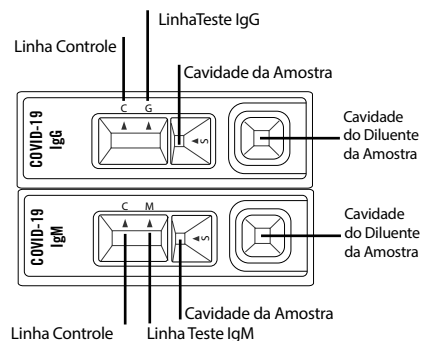
O COVID-19 IgG/IgM ECO Teste contém dois dispositivos teste, para detecção de IgG e IgM anti-COVID-19. O teste rápido para detecção de IgG e IgM anti-COVID-19 é um ensaio imunocromatográfico de fluxo lateral. As tiras dos testes contidas nos dispositivos consistem em uma membrana de nitrocelulose recoberta com as linhas "C" controle e "M" do teste para IgM, além de outra membrana para IgG, "C" controle e "G" do teste. Ambas as linhas nas janelas de leitura dos resultados não são visíveis até a aplicação da amostra. A almofada apresenta um anticorpo de cabra policlonal anti-IgG de camundongo na linha controle e uma proteína recombinante de COVID-19 nas regiões das linhas dos testes. Anticorpos monoclonais anti-IgG humano conjugados com ouro coloidal são usados para detecção de IgG e anticorpos monoclonais anti-IgM humano conjugados com ouro coloidal para detecção de IgM. Durante o teste, anticorpos anti-COVID-19 da amostra interagem com os anticorpos nas tiras teste, formando um complexo anticorpo-anticorpo com ouro coloidal de IgM ou IgG. O complexo migra pela membrana por capilaridade até a linha teste, na qual será capturado pela proteína recombinante de COVID-19. A linha dos testes ficará visível nas janelas de resultados caso anticorpos anti-COVID-19 estiverem presentes na amostra. A intensidade da linha teste irá variar de acordo com a concentração de anticorpos presentes na amostra. Caso não existam anticorpos presentes na amostra, não haverá formação das linhas dos testes nas tiras. As linhas controle são utilizadas para controle dos procedimentos e sempre deverão aparecer se os testes forem realizados da maneira adequada e os reagentes das linhas controle estiverem funcionando, independente da presença de coloração nas linhas dos testes. Caso contrário, o resultado do teste é considerado inválido e deverá ser repetido utilizando outro dispositivo.

Reagentes e Materiais Necessários

- Cada dispositivo é embalado individualmente e contém:
 - Um dispositivo teste.
 - Um sachê dessecante com sílica gel.
- Pipeta capilar de 10µL (para o teste de COVID-19 IgG/IgM).
- Tampão diluente.
- Saco para descartar.
- Manual de instruções.

Materiais que poderão ser requeridos e não são fornecidos:

- Cronômetro
- Recipiente para coleta de amostra.
- Centrífuga.



Atenções e Precauções

Uso apenas para Diagnóstico *in vitro*

- A instrução de uso deverá ser lida antes da execução do teste.
- Não reutilize os testes.
- Não use o teste se a embalagem de alumínio estiver danificada ou aberta.
- Não use os componentes do kit após a data de validade indicada na embalagem.
- Não use um tampão diluente de outro lote.
- Não fume, beba ou coma em áreas em que as amostras ou reagentes do kit estejam sendo manuseadas.
- Todos os reagentes devem estar em temperatura ambiente antes de iniciar os procedimentos.
- Evite a contaminação cruzada de amostras utilizando um novo coletor para cada amostra obtida.
- Observe as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos ao longo do procedimento. Limpe cuidadosamente líquidos derramados utilizando um desinfetante apropriado.
- Siga os procedimentos padronizados para o descarte apropriado das amostras. Utilize equipamentos de proteção individual como jalecos laboratoriais, luvas descartáveis e óculos de proteção quando estiver analisando as amostras. Lave bem as mãos após a execução dos testes.
- Umidade e temperatura podem afetar os resultados de maneira adversa. A sílica dessecante na embalagem absorve umidade impedindo efeitos sobre os produtos. Se sílica mudar de cor (amarelo para verde), o teste deve ser descartado.
- ATENÇÃO:** Todas as amostras humanas devem ser consideradas potencialmente infectantes. Recomenda-se que os reagentes e as amostras dos pacientes sejam tratadas de acordo com as normas ou outras diretrizes de segurança de risco biológico ou regulamentos locais apropriados.

Preparo de Reagentes e Instruções de Armazenamento

Armazenar os dispositivos teste entre 2 e 30°C, protegidos da luz. O teste deve permanecer na embalagem selada até o momento do uso. Não congelar. Não armazenar o kit em temperatura superior a 30°C. Deve-se tomar cuidado para evitar contaminação dos componentes do kit. Não usar o kit sob evidência de contaminação microbiológica ou precipitação. Os reagentes do kit são estáveis até a data de validade impressa na embalagem.

Coleta e Manuseio das Amostras

Plasma:

- Coletar o sangue total venoso em um tubo contendo anticoagulante comercialmente disponível, como heparina, EDTA ou citrato de sódio, por punção venosa. Centrifugar o sangue para obter a amostra de plasma.
- Se o plasma no tubo anticoagulante for armazenado entre 2-8°C, a amostra poderá ser utilizada por até 7 dias após a coleta. Usar a amostra por mais de uma semana pode causar reações não específicas. Para um armazenamento prolongado, armazenar abaixo de -40°C.
- As amostras devem ser levadas à temperatura ambiente antes da utilização.

Soro:

- Coletar o sangue total em um tubo comercialmente disponível, NÃO contendo anticoagulantes como heparina, EDTA ou citrato de sódio, por punção venosa. Deixar repousar por 30 minutos para coagulação do sangue. Centrifugar o sangue para obter a amostra de soro.
- As amostras de soro podem ser armazenadas entre 2 e 8°C por até 7 dias após a coleta. Usar a amostra armazenada por mais de uma semana pode causar reações não específicas. Para um armazenamento prolongado, armazenar abaixo de -40°C.
- As amostras devem ser levadas à temperatura ambiente antes da utilização.

Sangue total

• Sangue total capilar

- O sangue total capilar deve ser colhido assepticamente na ponta do dedo.
- Limpe a área com um algodão e álcool 70%.
- Aperte a ponta do dedo e perfure com uma lanceta estéril.
- Colete o volume preciso de sangue capilar (10 µL) até a marcação da linha preta na pipeta plástica descartável.
- O sangue total capilar deve ser testado imediatamente após a coleta.

• Sangue total venoso

- Colete o sangue total venoso em um tubo comercialmente disponível contendo anticoagulantes como heparina, EDTA ou citrato de sódio, por punção venosa.
- Recomenda-se a utilização imediata de amostras de sangue total venoso coletado. O sangue total venoso coletado em tubo com anticoagulante pode ser utilizado dentro de 1-2 dias após a coleta, desde que seja armazenado entre 2-8°C.
- Não utilize amostras de sangue hemolisadas.

- Anticoagulantes como heparina, EDTA ou citrato de sódio não afetam o resultado do teste.
- Interferências relevantes já conhecidas como amostras hemolisadas, lipêmicas, ictericas e contendo fator reumatóide podem prejudicar os resultados do teste.
- Use materiais descartáveis separados para cada amostra, a fim de evitar a contaminação cruzada que pode causar resultados errados.

Testar as amostras, assim que possível, após a coleta.

Se não realizar o teste imediatamente, as amostras de soro ou plasma devem ser armazenadas entre 2 e 8°C por até 5 dias. As amostras deverão ser congeladas a -20°C para longo período de armazenamento.

Se não realizar o teste imediatamente, as amostras de sangue total devem ser armazenadas em refrigeração (2 - 8°C). As amostras devem ser testadas no prazo de 24 horas após a coleta. Evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento.

Amostras contendo partículas visíveis deverão estar límpidas, por centrifugação, antes do teste. Não usar amostras com aparência lipêmica, com hemólise ou turbidez para evitar interferência na interpretação do resultado.

Procedimento

1º Passo: Levar a amostra e os componentes do teste para a temperatura ambiente, se refrigerados ou congelados. Uma vez que amostra estiver à temperatura ambiente, homogeneizar bem antes de realizar o teste.

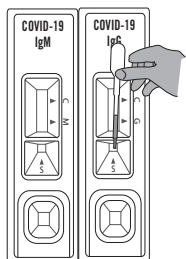
2º Passo: Verificar a data de validade na embalagem. Caso esteja vencida, não utilizar o teste. Abrir a embalagem e remover o dispositivo. Coloque o dispositivo teste em uma superfície limpa e plana.

3º Passo: Rotular o dispositivo teste com o número ou código de identificação da amostra.

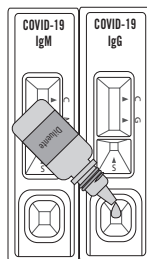
4º Passo:

Para a detecção de IgG anti-COVID-19

Encher a pipeta capilar com a amostra (10µL). Segurar a pipeta capilar verticalmente e dispensar toda a amostra na cavidade da amostra, certificando que não existem bolhas de ar. Imediatamente após, adicionar 3 gotas (90µL) de tampão diluente dentro da cavidade do diluente.



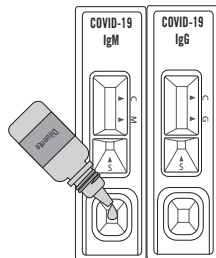
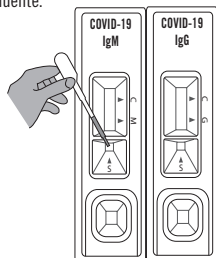
Aplicar 10µL da amostra na Cavidade da Amostra



Aplicar 3 gotas do diluente da amostra na cavidade do diluente

Para a detecção de IgM anti-COVID-19

Encher a pipeta capilar com a amostra (10µL). Segurar a pipeta capilar verticalmente e dispensar toda a amostra na cavidade da amostra, certificando que não existem bolhas de ar. Imediatamente após, adicionar 3 gotas (90µL) de tampão diluente dentro da cavidade do diluente.



5º Passo: Cronometrar o tempo.

6º Passo: Ler o resultado do teste em 10 minutos.

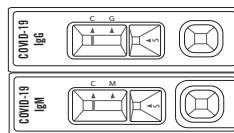
Não ler o resultado depois de 15 minutos. Para evitar confusões, descartar o dispositivo teste logo após a interpretação dos resultados.

Os resultados do teste devem ser considerados em conjunto ao histórico clínico e outros achados médicos disponíveis.

Interpretação do Resultado

Resultado Não Reagente:

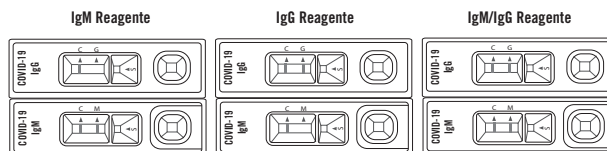
Se somente a linha C aparecer, a ausência de coloração nas linhas G ou M indicam que anticorpos anti-COVID-19 não foram detectados. O resultado é não reagente.



Resultado Reagente:

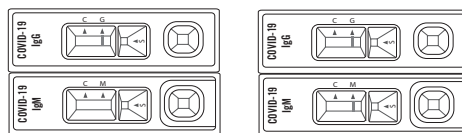
Se as linhas C e G ou M aparecerem, o teste indica a presença de anticorpos para COVID-19 na amostra. O resultado é reagente. A presença da linha M ou G, mesmo com intensidade fraca ou não uniforme, indica um resultado reagente.

Resultados reagentes devem ser considerados de acordo com histórico clínico e outros achados médicos. O COVID-19 IgG/IgM ECO Teste pode apresentar reação sorológica cruzada com anticorpos SARS.



Inválido:

Se a linha C não aparecer, o teste é inválido mesmo com o aparecimento das linhas G ou M. A linha Controle deverá sempre aparecer se o procedimento for realizado adequadamente e os reagentes do teste estiverem funcionando. Repetir o teste com um novo dispositivo.



Controle de Qualidade

Controle Interno: O teste contém um controle interno embutido, a linha C. A linha C desenvolve uma coloração violeta-avermelhada após a adição da amostra e do diluente da amostra. Se a linha C não aparecer, reveja todo o procedimento e repita o teste com um novo dispositivo teste.

Controle Externo: Não são fornecidos controles externos com esse kit. As Boas Práticas de Laboratório recomendam o uso de controles externos, reagentes e não reagentes, para confirmar o procedimento do teste e para verificar o desempenho apropriado.

Desempenho Clínico

Foram usadas 70 amostras biológicas fornecidas por laboratórios clínicos de referência. Os resultados foram comparados com os resultados de um kit molecular de RT-PCR disponível no mercado (método referência), com as mesmas amostras. As amostras foram consideradas reagentes se o resultado do kit referência fosse reagente. Amostras foram consideradas não reagentes se o resultado do kit referência fosse não reagente. A comparação entre os resultados segue abaixo:

COVID-19 IgG/IgM ECO Teste X Método de Referência (RT-PCR)				
IgG	Resultados	Reagente	Não reagente	Total
	Reagente	20	1	21
	Não reagente	0	49	49
Total		20	50	70
Sensibilidade IgG: 95%; Especificidade IgG: 99%				

COVID-19 IgG/IgM ECO Teste X Método de Referência (RT-PCR)				
IgM	Resultados	Reagente	Não reagente	Total
	Reagente	17	2	19
	Não reagente	3	48	51
Total		20	50	70
Sensibilidade IgM: 90%; Especificidade IgM: 94%				

Limitações do Teste

Não seguir o correto procedimento do teste pode levar a resultados imprecisos ou inválidos. O COVID-19 IgG/IgM ECO Teste é limitado qualitativamente na detecção de anticorpos IgM e/ou IgG contra o vírus COVID-19 em soro, plasma e sangue total.

A intensidade da linha teste não possui correlação linear com o título de anticorpos nas amostras. A concentração de anticorpos ou índice IgM/IgG não pode ser determinada com esse teste.

A presença desses anticorpos não deve ser critério único para diagnóstico da infecção de COVID-19. Resultados reagentes devem ser considerados de acordo com histórico clínico e outros achados médicos.

Reação sorológica cruzada com outros coronavírus como SARS podem ocorrer. Portanto, é possível que pacientes infectados com esses vírus possam apresentar algum grau de reação cruzada com esse teste.

Um resultado não reagente indica ausência de anticorpos detectáveis para COVID-19. Entretanto, um teste com resultado não reagente não previne a possibilidade de exposição ou infecção pelo COVID-19.

Um resultado não reagente pode ocorrer se a quantidade de anticorpos contra o COVID-19 presente na amostra estiver abaixo do limite de detecção do teste ou os anticorpos que são detectados não estiverem presentes durante o estágio da doença em cada uma das amostras coletadas.

Se os sintomas persistirem, por mais que o resultado do teste seja não reagente, recomenda-se realizar um novo teste após poucas semanas ou usar uma metodologia laboratorial alternativa.

Algumas amostras contendo altos títulos de anticorpos heterofílicos ou fator reumatoide podem afetar os resultados esperados. Igualmente em amostras lipêmicas, hemolisadas ou contaminadas.

Referências

- World Health Organization (WHO). WHO Statement Regarding Cluster of Pneumonia Cases in Wuhan, China. Beijing: WHO; 9 Jan 2020.
- Tahir ul Qamar, M.; Alqahtani, S.M.; Alamri, M.A.; Chen, L. Structural Basis of SARS-CoV-2 3CLpro and Anti-COVID-19 Drug Discovery from Medicinal Plants. Preprints 2020, 2020020193 (doi: 10.20944/preprints202002.0193.v1).
- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. Adv Virus Res 2011;81:85-164.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. Trends Microbiol 2016;24:490-502.
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019;17:181-192.
- Radiology Department of Sichuan Academy of Medical Science, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, China (W.K.); University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA (P.P.A.).

Fabricante: ECO Diagnóstica LTDA.

Avenida Amarante Ribeiro de Castro, 551, Oliveira – Corinto – MG - CEP: 39.200-000
 CNPJ 14.633.154/0002-06 - Autorização do MS nº 8.09548-8 - Farmacêutico Resp.
 Técnico: Vinícius Silva Pereira CRF-MG: 19.800 - Tel.: +55 31 36532025.
 contato@ecodiagnostica.com.br – www.ecodiagnostica.com.br

Reg. MS. XXXXXXXXXX | Edição: 001/2020, aprovada em 03/03/2020.