

OnSite® Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus

REF R0062C CE

Bruksanvisning

TILTENKT BRUK

OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus er en lateral flow-immunoanalyse for samtidig påvisning og differensiering av IgG-, IgM- og NS1-antigen for denguevirus (DENV1, 2, 3 og 4) i humant serum, plasma eller fullblod. Den er ment for bruk av helsepersonell for å bidra til å diagnostisere en potensiell infeksjon med denguevirus.

All bruk eller fortolkning av dette foreløpige testresultatet må også bygge på andre kliniske funn og helsepersonells faglige vurdering. Alternative testmetoder bør vurderes for å bekrefte testresultatet oppnådd med denne enheten.

OPPSUMMERING OG FORKLARING AV TESTEN

Denguevirus er et innkapslet, enkelttrådet, positive-sense RNA-virus som omfatter fire relaterte, men distinkte serotyper (DENV1, 2, 3 og 4). Viruset overføres via mygg som stikker på dagtid, i Stegemyia-familien, hovedsakelig *Aedes aegypti* og *Aedes albopictus*. Mer enn 2,5 milliarder mennesker bosatt i områder i tropiske Asia, Afrika, Australia og Amerika lever i dag med risiko for å få dengueinfeksjon. Det er estimert at det på verdensbasis årlig forekommer 100 millioner tilfeller med denguefeber og 250 000 tilfeller med livstruende denguefeber med blødning¹⁻³.

Serologisk påvisning er en vanlig metode for diagnostisering av infeksjon med denguevirus. IgM-antistoff mot denguevirus begynner å produseres tre dager etter den første eksponeringen og forblir i sirkulasjon i omtrent 30–60 dager. Nivået av IgG-antistoff mot denguevirus stiger rundt dag 7 og er på sitt høyeste rundt uke 2–3. Det blir værende i kroppen livet ut⁴⁻⁶. Påvisning av antigener, som NS1 for denguevirus, som frigis under virusreplikasjon hos den infiserte pasienten, viser svært lovende resultater. Det gjør det mulig å stille en diagnose fra den første dagen etter feber oppsto, og frem til og med dag 9 når sykdommens kliniske fase er over, noe som gjør det mulig med tidlig påvisning og rask igangsetting av behandling⁷.

OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus påviser IgG- og IgM-antistoff mot denguevirus og sirkulerende NS1-antigen for denguevirus (DENV1, 2, 3, 4) i humant serum, plasma eller fullblod. Den kan tas på 20–25 minutter, og krever verken spesiell kunnskap eller bruk av laboratorieutstyr.

TESTPRINSIPPET

OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus inneholder to teststrimler (venstre side: IgG/IgM-test for denguevirus, høyre side: Ag-test for denguevirus).

IgG/IgM-hurtigtesten for denguevirus på venstre side er en kromatografisk lateral flow-immunoanalyse. Teststrimmelen i kassetten består av følgende: 1) en farget konjugatpute som inneholder rekombinante innkapslede dengue-antigener konjugert med kolloidgull (dengue-Ag-konjugat) og et kontroll-antistoff konjugert med kolloidgull, 2) en strimmel med nitrocellulosemembran som består av to teststreker (G-streken og M-streken) og en kontrollstrek (C-streken). G-streken er på forhånd belagt med antistoffer for påvisning av IgG-antistoff mot denguevirus, M-streken er på forhånd belagt med antistoffer for påvisning av IgM-antistoff mot denguevirus, og C-streken er på forhånd belagt med et kontrollstrek-antistoff.

Ag-hurtigtesten for denguevirus på høyre side er en kromatografisk lateral flow-immunoanalyse. Teststrimmelen i kassetten består av følgende: 1) en farget konjugatpute som inneholder antistoffer mot dengue-NS1-antigenet, konjugert med kolloidgull (dengue-Ab-konjugat) og et kontroll-antistoff konjugert med kolloidgull, 2) en strimmel med nitrocellulosemembran som består av en teststrek (T-streken) og en kontrollstrek (C-streken). T-streken er på forhånd belagt med antistoffer mot dengue-NS1, og C-streken er belagt med et kontrollstrek-antistoff. Antistoffene mot dengue-NS1 gjenkjenner NS1-antigenene fra alle fire serotypene av dengueviruset.

Når et tilstrekkelig volum med prøvemateriale dryppes i prøvebrønnen på testkassetten, migrerer prøvematerialet langs kassetten ved hjelp av en kapillærkraft. Hvis dengue-NS1-antigenet er til stede i prøven, binder det seg til dengue-Ab-konjugatene. Immunkomplekset fanges deretter opp i membranen av laget med antistoffer mot dengue-NS1-antigenet og danner en farget T-strek. Hvis det påvises IgG- og/eller IgM-antistoff mot denguevirus i prøven, binder dette antistoffet seg til dengue-Ag-konjugatene. Immunkomplekset fanges deretter opp av reagenslaget og danner henholdsvis en farget G- og/eller M-strek.

Et resultat som er positivt for dengue-Ag, tyder på en aktiv infeksjon. Et resultat som er positivt for dengue-IgM, tyder på en primær infeksjon. Et resultat som er positivt for dengue-IgG, tyder på en sekundær eller tidligere infeksjon, og et positivt resultat for dengue-IgG og -IgM tyder på en sen primær eller tidlig sekundær infeksjon. Resultatene fra denne testen må brukes sammen med andre diagnostiske prosedyrer og kliniske funn.

Fravær av G-, M- eller T-streker tyder på et negativt resultat. Hver test inneholder en intern kontroll (C-strek) som skal vise en farget strek for immunkomplekset i kontroll-antistoffene både i det venstre og det høyre panelet, uavhengig av om det utvikler seg farge på noen av teststrekene. Hvis det ikke dukker opp noen C-strek i et panel, er testresultatet ugyldig, og prøvematerialet må testes på nytt med en annen enhet. Et ugyldig resultat i ett panel gjør ikke testresultatet ugyldig i det andre panelet.

REAGENSER OG MATERIALER SOM MEDFØLGER

- Individuelt forseglede folieposer med følgende:
 - én kassettenhet
 - én pose med tørkemiddel
- 5 µl kapillærrør (for IgG/IgM-test for denguevirus)
- plastpipetter (for Ag-testen for denguevirus)
- prøvefortynner (REF SB-R0062, 5 ml/flaske)
- Bruksanvisning

MATERIALER SOM KANSJLE TRENGS OG ER TILGJENGELIG FOR KJØP

- Positiv kontrollsett til Ag-hurtigtest for denguevirus (kat.nr. C0063), med positiv kontroll og negativ kontroll.

MATERIALER SOM TRENGS, MEN IKKE MEDFØLGER

- klokke eller timer

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Til in vitro-diagnostisk bruk

- Les nøye gjennom denne bruksanvisningen før du tar testen. Dersom instruksjonen ikke følges, kan det føre til feilaktige testresultater.
- Du må ikke åpne den forseglede posen før du er klar til å utføre analysen.
- Ikke bruk enheter som er utgått på dato.
- Sørg for at alle reagensene holder romtemperatur (15–30 °C) før bruk.
- Ikke bruk komponentene fra noen som helst annen type testsett som erstatning for komponentene i dette settet.
- Ikke bruk hemolyserte blodprøver til testing.

7. Bruk verneklær og engangshansker når du håndterer reagensene i settet og kliniske prøver. Vask hendene godt etter at du har utført testen.
8. Følg FHLs universelle forholdsregler for å forhindre overføring av HIV, HBV og andre blodbårne patogener.
9. Du må ikke røyke, drikke eller spise på områder der prøvemateriale eller reagenser i settet håndteres.
10. Avhend alt prøvemateriale og materiale som brukes til å utføre testen, som biologisk farlig avfall.
11. Hånderne negative og positive kontrollene på samme måte som pasientprøver.
12. Avles testresultatet 20–25 minutter etter at prøvematerialet er påført i enhetens prøvebrønn. Eventuelle resultater som avleses utenfor vinduet på 20–25 minutter, skal anses som ugyldige, og testen må da gjentas.
13. Testen må ikke utføres i et rom med kraftig luftstrøm, f.eks. med en elektrisk vifte eller et kraftig klimaanlegg.

KLARGJØRING AV REAGENSER OG OPPBEVARINGSINSTRUKSJONER

Alle reagensene er klare til bruk slik de er levert. Oppbevar ubrukte testenheter uåpnet ved 2–30 °C. Hvis de oppbevares ved 2–8 °C, må du sørge for at testenheter har nådd romtemperatur før du åpner posen. Testenheter er stabil frem til utløpsdatoen som står skrevet på den forseglede posen. Ikke frys eller utsett settet for temperaturer over 30 °C.

PRØVETAKING OG -HÅNTERING

Alle materialer av human opprinnelse skal anses som smittefarlige og håndteres i henhold til standard biologiske sikkerhetsprosedyrer.

Trinn 1: **For alle prøver:** Ta blodprøve ved hjelp av venepunksjon, og samle blodet i oppsamlingsrøret med EDTA, sitrat eller heparin for plasma- eller fullblodsprøver, eller i oppsamlingsrøret uten antikoaguleringsmidler for serumprøver.

Trinn 2: **For fullblodsprøver:** Test umiddelbart, eller oppbevar kjølig ved 2–8 °C i opptil 24 timer etter prøvetaking. Prøver må ikke fryses.

Slik klargjør du plasma: Sentrifuger prøven som er tatt, og trekk forsiktig plasma inn i et nytt, forhåndsmerket rør.

Slik klargjør du serum: La blodet koagulere, sentrifuger prøven som er tatt, og trekk forsiktig ut serum inn i et nytt, forhåndsmerket rør.

Trinn 3: **Bare for plasma/serum:** Test prøvene umiddelbart etter at de er tatt, eller oppbevar dem kjølig ved 2–8 °C i opptil fem dager. Prøvematerialet kan fryses ved –20 °C dersom det skal oppbevares over lengre tid. Unngå å fryse og tine prøvematerialet flere ganger.

Frosne prøver må tines opp sakte til romtemperatur og blandes forsiktig før testing. Prøver som inneholder synlige partikler, må klargjøres ved hjelp av sentrifugering før testing.

Merk: Ikke test prøver hvis de er kraftig lipemiske, kraftig hemolyserte eller slørete, for å unngå at fortolkningen av resultatet forstyrres.

ANALYSEPROSEDYRE

Trinn 1: Sørg for at prøvematerialet og testkomponentene oppnår romtemperatur, hvis de har vært nedkjølt eller nedfrosset. Når prøvematerialet er ting, må det blandes godt før du utfører analysen.

Trinn 2: Når alt er klart til å utføre testen, åpner du posen i hakket og tar ut enheten. Plasser testenheten på et rent og flatt underlag.

Trinn 3: Merk enheten med prøvens ID-nummer.

Trinn 4:

For påvisning av IgG/IgM for denguevirus

4.1 Fyll kapillærrøret med serum-/plasma-/fullblodsprøven, og sørg for at du ikke overskrider prøvelinjen som vist på bildene nedenfor.

4.2 Hold kapillærrøret loddrett, og drypp alt prøvematerialet (5 µl) i midten av prøvebrønnen (brønn S). Sørg for å unngå luftbobler.

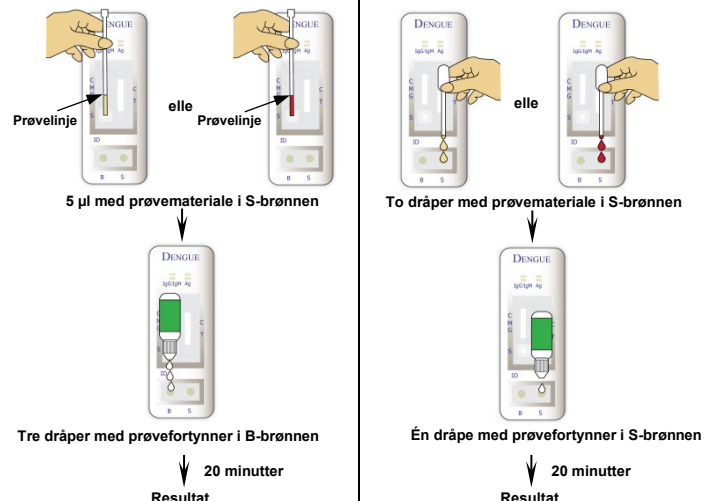
Tilsett umiddelbart tre dråper (ca. 90–120 µl) med prøvefortynner i bufferbrønnen (brønn B) mens du holder flasken loddrett.

For påvisning av Ag for denguevirus

4.1 Fyll plastpipetten med prøvemateriale.

4.2 Hold pipetten loddrett, drypp to dråper (ca. 60 µl) med serum/plasma eller to dråper med fullblod (ca. 70 µl) midt i prøvebrønnen (S-brønnen), og sørg for å unngå luftbobler.

Tilsett umiddelbart én dråpe (ca. 30–40 µl) med prøvefortynner i prøvebrønnen (S-brønnen) mens du holder flasken loddrett.



Trinn 5: Sett på en timer.

Trinn 6: Avles resultatet etter 20–25 minutter. Positive resultater kan bli synlige etter så kort tid som 1 minutt. Negative resultater kan først bekreftes når det har gått 25 minutter. **Eventuelle resultater som avleses utenfor vinduet på 20–25 minutter, skal derimot anses som ugyldige, og testen må da gjentas. Avhend brukte enheter etter at resultatet er fortolket, i henhold til lokale lover og regler for avhending av denne typen enheter.**

KVALITETSKONTROLL

- Intern kontroll:** Hvert testpanel inneholder en innebygd kontrollfunksjon, C-streken. C-streken dukker opp etter at du har tilført prøvemateriale og prøvefortynner. Hvis det ikke dukker opp noen C-strek, må du gjennomgå hele prosedyren og gjenta testen med en ny enhet.
- Ekstern kontroll:** I henhold til god laboratoriepraksis anbefales det å bruke de eksterne kontrollene, positive og negative, for å sikre at analysen utføres riktig, spesielt i følgende tilfeller:
 - hvis en ny person bruker settet, før du skal teste prøver

- b. hvis det brukes en ny lot med testsett
- c. hvis det brukes en ny forsendelse med testsett
- d. hvis temperaturen under oppbevaring av settet havner utenfor området 2–30 °C.
- e. hvis temperaturen på testområdet havner utenfor området 15–30 °C
- f. hvis du må bekrefte et større antall positive eller negative resultater enn forventet
- g. hvis du gjentatte ganger får ugyldig resultat og må undersøke årsaken til det

FORTOLKNING AV ANALYSERESULTATET

1. NEGATIVT RESULTAT:

Hvis bare C-streken vises, og det ikke er noen farget G-, M- eller T-strek, indikerer det at det verken ble påvist antistoffer mot denguevirus eller NS1-antigen fra denguevirus. Resultatet er negativt eller ikke-reaktivt.

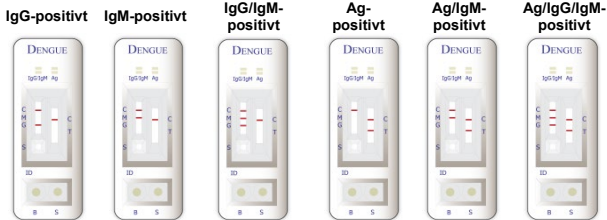


2. UGYLDIG:

Hvis det ikke vises noen C-strek, er analysen ugyldig uavhengig av om det vises noen farget G-, M- eller T-strek, som vist nedenfor. Gjenta analysen med en ny enhet.



3. POSITIVT RESULTAT:



Prøver med positive eller reaktive resultater må bekreftes med alternative testmetode(r) og kliniske funn før det kan stilles noen diagnose.

YTELSESKARAKTERISTIKK

1. Grense for påvisning

Man fant at OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus påviste NS1-protein i alle fire typene dengueviruslysats I, II, III og IV. Grensen for påvisning er 0,25 ng/ml som fastslått med rekombinant dengue-NS1-antigen fra serotype 2 (DENV2).

2. Klinisk ytelse for Ag-test

Totalt 350 prøver ble tatt av personer med mistanke om infeksjon og friske kontrollpersoner. Og disse ble testet med OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus og med en kommersiell Ag-ELISA-test for denguevirus. En sammenligning for alle testpersoner er vist i følgende tabell:

OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus			
Referansetest	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv	117	0	117
Negativ	1	232	233
Totalt	118	232	350

Relativ sensitivitet: 100 % (95 % KI: 96,8–100 %)
 Relativ spesifisitet: 99,6 % (95 % KI: 97,6–99,9 %)
 Samlet overensstemmelse: 99,7 % (95 % KI: 98,4–99,9 %)

3. Klinisk ytelse for IgG-test

Totalt 326 prøver ble innsamlet fra pasienter med mistanke om infeksjon og testet med OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus og med en kommersiell EIA-test for IgG-antistoff mot denguevirus. En sammenligning for alle testpersoner er vist i følgende tabell:

OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus			
Referansetest	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv	36	1	37
Negativ	2	287	289
Totalt	38	288	326

Relativ sensitivitet: 97,3 % (95 % KI: 86,2–99,5 %)
 Relativ spesifisitet: 99,3 % (95 % KI: 97,5–99,8 %)
 Samlet overensstemmelse: 99,1 % (95 % KI: 97,3–99,7 %)

4. Klinisk ytelse for IgM-test

Totalt 314 prøver ble innsamlet fra pasienter med mistanke om infeksjon og testet med OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus og med en kommersiell EIA-test for IgM-antistoff mot denguevirus. En sammenligning for alle testpersoner er vist i følgende tabell:

OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus			
Referansetest	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv	31	1	32
Negativ	3	279	282
Totalt	34	280	314

Relativ sensitivitet: 96,9 % (95 % KI: 84,3–99,4 %)
 Relativ spesifisitet: 98,9 % (95 % KI: 96,9–99,6 %)
 Samlet overensstemmelse: 98,7 % (95 % KI: 96,7–99,5 %)

5. Kryssreaktivitet

Ingen falskt positive Ag-, IgG- eller IgM-testresultater for denguevirus ble observert i 1–10 prøver fra følgende sykdomstilstander:

Chikungunya	CMV	HAV	HBV	HCV
HIV	hCG	H. pylori	TB	T. gondii
Tyfoidefeber	Rubella	ANA	HAMA	RF (opptil 8400 IU/ml)

6. Interferens

Vanlige stoffer (som smertestillende, febermedsettende og blodkomponenter) kan påvirke resultatet av OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus. Dette ble studert ved å tilsette disse stoffene i henholdsvis negative og positive serumprøver tilsatt henholdsvis NS1-antigen for denguevirus og

IgG- og IgM-antistoff mot denguevirus. Resultatene viser at i de testede konsentrasjonene påvirker ikke de studerte stoffene resultatet av OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus.

Liste over potensielt interfererende stoffer og konsentrasjoner testet:

1. Albumin	60 g/l	6. Heparin	3000 U/l
2. Bilirubin	20 mg/dl	7. Salisylsyre	4,34 mmol/l
3. Kreatinin	442 µmol/l	8. Natriumsulfat	3,8 %
4. EDTA	3,4 µmol/l	9. Humant IgG	1000 mg/dl
5. Glukose	55 mmol/l		

7. Dose-hook-effekt

Ingen hook-effekt ble observert med en konsentrasjon av dengue-NS1-antigen på opptil 200 µg/ml.

TESTENS BEGRENSNINGER

1. Avsnittene Analyseprosedyre og Fortolkning av analyseresultatet må følges nøye når du tester for tilstedeværelsen av IgG- og IgM-antistoffer mot denguevirus og dengue-NS1-antigen i serum, plasma eller fullblod fra enkeltpersoner. Dersom prosedyrene ikke følges, kan det gi feilaktige testresultater.
2. OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus er begrenset til kvalitativ påvisning av IgG- og IgM-antistoffer mot denguevirus og dengue-NS1-antigen i humant serum, plasma eller fullblod. Intensiteten på teststreken har ingen lineær korrelasjon med IgG- og IgM-antistoffene og NS1-antigenitet i prøven.
3. Det kan ikke innhentes noe informasjon om denguevirus-serotypen(e) i en prøve ut fra denne testen.
4. Et negativt eller ikke-reaktivt resultat for en enkeltperson indikerer fravær av påvisbare IgG- eller IgM-antistoffer mot denguevirus eller dengue-NS1-antigen. Et negativt eller ikke-reaktivt testresultat utelukker ikke muligheten for eksponering for eller infeksjon med denguevirus.
5. Et negativt eller ikke-reaktivt resultat kan oppstå hvis mengden antistoffer mot denguevirus eller dengue-NS1-antigen i prøven er under analysens grenser for påvisning, eller hvis antistoffene og antigenene som kan påvises, ikke er til stede i den sykdomsfasen som prøven tas i. Det kan for eksempel være noen pasienter som ikke produserer påvisbare nivåer av IgM-antistoffer i en tidlig fase av infeksjonen eller en gjentatt infeksjon.
6. Infeksjonen kan utvikle seg raskt. Hvis symptomene vedvarer selv om resultatet fra OnSite Duo Ag-IgG/IgM-hurtigtest for denguevirus er ikke-reaktivt, anbefales det å teste med en alternativ metode som PCR eller ELISA.
7. Noen prøver som inneholder uvanlig høye titere med heterofile antistoffer eller revmatoid faktor, kan påvirke de forventede resultatene.
8. Resultatene fra denne testen må bare tolkes sammen med andre diagnostiske prosedyrer og kliniske funn.

REFERANSER

1. Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. Emerg Infect Dis. 1995;1(2):55–57.
2. Gubler DJ, Trent DW. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. Infect Agents Dis 1993; 2:383–393.
3. Monath TP. Dengue: the risk to developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91:2395–400.
4. Price DD, Wilson SR. "Severe Dengue Infection." Medscape Reference Drugs, Diseases & Procedures, May 2011. Web. http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm.
5. Innis BL, and Nisalak A, et al: An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. Am J Trop Med Hygiene 1989; 40: 418–27.
6. Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997.
7. Alcon S, Talarmin A., Debruyne M., et al: Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. J Clin Microbiol, 2002, 40: 376–81.

Indeks over symboler

	Se bruksanvisning		Bare til <i>in vitro</i> -diagnostisk bruk		Må brukes innen
	Katalognr.		Lotnummer		Tester per sett
	Må oppbevares mellom 2 og 30 °C		Autorisert representant		Må ikke gjenbrukes
	Produsent		Produksjonsdato		

13855 Stowe Drive
 Poway, CA 92064, USA
 Tlf.: 858-457-8698
 Faks: 858-535-1739
 E-post: info@ctkbiotech.com

MDSS GmbH
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover, Germany

PI-R0062C-NN Rev. L1.0
 Dato utgitt: 2022-07-14
 Norsk versjon

Bare for eksport, ikke for videresalg i USA