



Bioline™ Dengue Duo

Samtidig påvisning av Dengue NS1 Ag og IgG/IgM Ab-test
Kombinerat antigen- og antikroppstest for simultandetekning av NS1-antigen och IgG- och/eller IgM-antikroppar
vid denguefeber
Samtidig påvisning af dengue NS1 Ag & IgG/IgM Ab-test
Testi Dengue NS1 Ag:n ja IgG/IgM Ab:n samanaikaiseen havaitsemiseen

NORSK

Om testen

[Innledning] Denguevirus, overført av myggene *Ae. aegypti* og *Ae. albopictus*, er svært utbredt i de tropiske og subtropiske områdene i verden. Dengue er en viktig leddyrbåren virusssykdom på grunn av dens høye sykkelighet og dødelighet hos mennesker. Det er fire kjente distinkte serotyper: denguevirus 1, 2, 3 og 4. Hos barn er infeksjon ofte subklinisk eller forårsaker en selvbegrenset febersykdom. Men hvis pasienten blir infisert med en annen serotype, øker risikoen for en mer alvorlig sykdom, slik som dengue hemorragisk feber eller dengue sjokksyndrom. NS1-antigen er et høyt konservert glykoprotein som er tilstede i høye konsentrasjoner i sera fra dengue-smittede pasienter, under den tidlige kliniske fasen av sykdommen. NS1-antigen finnes i prøver fra primære eller sekundære dengue-smittede pasienter mellom 1 og 9 dager etter feberstart. IgM blir vanligvis påviselig inntil 5 til 10 dager etter sykdomsdebut i tilfeller av primær dengueinfeksjon og inntil 4 til 5 dager etter sykdomsdebut ved sekundære infeksjoner. Ved primære infeksjoner vises IgG innen den 14. dagen og vedvarer hele livet. Ved sekundære infeksjoner stiger IgG-nivåene i 1–2 dager etter symptomdebut og en IgM-respons induseres 20 dager etter infeksjon.

[Prinsipp] Bioline™ Dengue Duo-testen inneholder to *in vitro* immunokromatografiske analyser for analyse av dengueinfeksjon i humant serum, plasma eller fullblod (venstre side; Dengue NS1 Ag-analyse, høyre side; Dengue IgG/IgM-analyse). Dengue NS1-antigentesten er en svært sensitiv og spesifikk ett-trinnsanalyse for kvalitativ påvisning av denguevirus NS1-antigen. Når det tilsettes til prøvebrønnen, reagerer NS1-antigen som er til stede i prøven med monoklonale anti-dengue Ab-kolloidale gullkonjugater fra mus, og danner et kompleks av antistoffer og antigen. Når dette komplekset migrerer langs testenheten, ved kromatografi, fanges det opp av immobiliserte antistoffer som produserer en farget testlinje ved siden av "T" (testlinje for NS1-antigen). En andre linje brukes til hovedbestanddelene på siden av "C" (kontrolllinje) hvis testprosedyren er utført riktig og virkestoffene til hovedbestanddelene på strimmelen fungerer. Når denguevirus NS1-antigen er til stede i prøven, vises både kontrollinjen ("C") og testlinjen ("T") i resultatvinduet, noe som indikerer et positivt resultat. Bare kontrollinjen ("C") vises for prøver som ikke inneholder NS1-antigen eller inneholder NS1-antigen under de påviselige nivåene, noe som indikerer et negativt resultat. Dengue IgG/IgM-testen er en kvalitativ analyse for differensiell påvisning av IgG- og IgM-antistoffer mot denguevirus. Denne testen påviser antistoffer for alle fire dengue-serotypene ved å bruke en blanding av rekombinante dengue-kappeproteiner. Når det tilsettes prøvebrønnen, reagerer anti-dengue IgG and IgM som er til stede i prøven med rekombinante denguevirus kappeproteiner-kolloidale gullkonjugater, og danner et kompleks av antistoffer og antigen. Når dette komplekset migrerer langs testenheten, ved kromatografi, fanges det opp av immobiliserte antihumane IgG og/eller "M" (testlinje for dengue IgG). En tredje linje brukes for prosedyrekontroll og skal alltid vises ved siden av "C" (kontrollinje) hvis testprosedyren er utført riktig og virkestoffene til hovedbestanddelene på strimmelen fungerer. Når dengue-antistoffer er tilstede i prøven, vises både kontrollinjen ("C") og testlinjene ("G" og/eller "M") i resultatvinduet, noe som indikerer et positivt resultat. Bare kontrollinjen ("C") vises for prøver som ikke inneholder dengue IgG/IgM ("G"/"M"), eller som inneholder disse antistoffene under påvisningsgrensen for analysen, noe som indikerer et negativt resultat.

[Tiltenkt bruk] Bioline™ Dengue Duo-testen er en *in vitro* immunokromatografisk ett-trinnsanalyse utviklet for å påvise denguevirus NS1-antigen, IgG og IgM-antistoffer mot denguevirus i humant serum, plasma eller fullblod. Testen er beregnet for profesjonell bruk, for å hjelpe til med den presumptive diagnosen av primære og sekundære dengueinfeksjoner. Bioline™ Dengue Duo gir kun et foreløpig testresultat. Spesifikke alternative diagnostiske metoder må brukes for å få en bekreftelse på denguevirusinfeksjon. Dette kan omfatte isolering av virus, antigenpåvisning, direkte test, RT-PCR og serologisk testing som hemagglutinasjonshemming.

Materialer som følger med og virkestoffer i hovedbestanddelene

1. Bioline™ Dengue Duo-settet inneholder følgende elementer for å utføre analysen:

Komponenter	Kat.nr. 11FK45	Kat.nr. 11FK46
Dengue NS1 Ag og Dengue IgG/IgM-kombinasjonset, individuelt pakket inkludert tørkemiddelpose	10	25
Analysefortynningsmiddel for Dengue IgG/IgM-test	1 x 3ml	1 x 5ml
Kapillærpipetter for Dengue IgG/IgM-test (10 µl)	10	25
engangsdråpetellere for Dengue NS1 Ag-test	10	25
bruksanvisning	1	1

2. Virkestoffer i hovedbestanddelene

[Dengue NS1 Ag]

1 teststrimmel omfatter: Gullkonjugat: Monoklonal anti-dengue NS1 Ab-pool fra mus – gullkolloid (0,0623 ± 0,0200 µg), kylling IgY – gullkolloid (0,050 ± 0,015 µg), testlinje: Monoklonal anti-dengue NS1 Ab-pool fra mus (0,64 ± 0,20 µg), kontrollinje: Monoklonalt anti-kylling-IgY fra mus

[Dengue NS1 Ag]

- Negativt resultat: Tilstedeværelsen av bare kontrollinje ("C") i resultatvinduet indikerer at NS1-antigen ikke var til stede i prøven eller er til stede under de påviselige nivåene.
- Positivt resultat: Tilstedeværelsen av to fargede linjer ("C" og "T") i resultatvinduet indikerer at prøven er positiv for NS1-antigen. Dette tyder på en tidlig dengueinfeksjon.
- Ugyldig resultat: Ingen kontrollinje ("C") i resultatvinduet betyr at testen er ugyldig, uansett om testlinjen ("T") er til stede eller ikke. Instruksjonene er kanskje ikke fulgt riktig eller testen kan ha blitt kompromittert. Når man får et ugyldig resultat, anbefales det at prøven testes på nytt med en ny enhet.

[Dengue IgG/IgM]

- Negativt resultat: Tilstedeværelsen av bare kontrollinje ("C") i resultatvinduet indikerer at IgG- og IgM-antistoffer for dengue ikke finnes i prøven eller finnes under de påviselige nivåene. Test på nytt om 3–5 dager hvis det er mistanke om dengueinfeksjon.
- Positivt resultat for IgM: Tilstedeværelsen av to fargede linjer ("C" og "M") i resultatvinduet indikerer at prøven er positiv for IgM-antistoffer mot dengue. Dette tyder på en primær dengueinfeksjon.
- Positivt resultat for IgG: Tilstedeværelsen av to fargede linjer ("C" og "G") i resultatvinduet indikerer at prøven er positiv for IgG-antistoffer mot dengue. Dette tyder på en sekundær eller tidligere dengueinfeksjon.
- Positivt resultat for IgG og IgM: Tilstedeværelsen av tre fargede linjer ("C", "M" og "G") i resultatvinduet indikerer at prøven er positiv for både IgM- og IgG-antistoffer mot dengue. Dette tyder på primær eller tidlig sekundær dengueinfeksjon.
- Ugyldig resultat: Ingen kontrollinje ("C") i resultatvinduet betyr at testen er ugyldig, uansett om testlinjen ("M" og/eller "G") er til stede eller ikke. Instruksjonene er kanskje ikke fulgt riktig eller testen kan ha blitt kompromittert. Når et ugyldig resultat oppnås, anbefales det at prøven testes på nytt med en ny enhet.

Testbegrensninger

- Nivået av denguevirus NS1-antigen, IgG- og IgM-antistoffer varierer avhengig av sykdomstadiet. Ved tidlige infeksjoner og enkelte sekundære infeksjoner kan påviselige nivåer av IgM-antistoffer være lave. Noen pasienter produserer kanskje ikke påviselige nivåer av antistoff i løpet av de første sju til ti dagene etter infeksjon. Hvis testresultatet er negativt og kliniske symptomer vedvarer, bør en ny prøve tas, 3–4 dager etter den første prøven som ble tatt.
- Anti-NS1-antistoffer produseres hos noen pasienter. I dette tilfellet hemmes påvisningen av NS1-antigen og et negativt resultat kan forekomme.
- Et negativt resultat kan forekomme hvis dengue NS1-antigenet eller dengue-antistoffene ikke er til stede i prøven når den tas eller er under det påviselige nivået. Et negativt testresultat utelukker ikke muligheten for dengueinfeksjon.
- Som med alle diagnostiske tester, må resultatene vurderes med annen klinisk informasjon tilgjengelig for legen.
- Serologisk kryssreaktivitet på tvers av flavivirus-slekten (f.eks. vestnilvirus, St. Louis encefalittvirus, japansk encefalittvirus, gulfebervirus, zikavirus) er vanlig. Selv om det ikke ble observert noen kryssreaktivitet i interne studier (se avsnittet om ytelseegenskaper), må kryssreaktivitet med flavivirus-slekten vurderes som mulig.
- Testresultatene kan variere i henhold til tidspunktet da prøven ble tatt etter symptomdebut, prøvetypen, serotypen, til stede i den testede populasjonen, referansemetoden som ble brukt og andre faktorer. Disse variablene må vurderes når man sammenligner studier.

Intern kvalitetskontroll

Bioline™ Dengue NS1 Ag-testen har "T" (testlinje) og "C" (kontrollinje) merket på overflaten av enheten. Bioline™ Dengue IgG/IgM-testen har "G" og "M" (testlinjer) og "C" (kontrollinje) merket på overflaten av enheten. Kontrollinjene brukes som prosedyrekontroller. Tilstedeværelsen av kontrollinjen viser at fortynningsmiddelet har blitt påført riktig og at de aktive ingrediensene i hovedbestanddelene på strimmelen var funksjonelle, men er ikke en garanti for at prøven er riktig påført og representerer ikke en positiv prøvekontroll.

Forventet verdi

NS1-antigen forventes å bli påvist 1 dag etter feberstart og vedvare opptil 9 dager ved både primær og sekundær dengueinfeksjon. Primær dengueinfeksjon kjennetegnes ved tilstedeværelse av påviselig IgM 3–5 dager etter infeksjonsstart. Sekundær dengueinfeksjon kjennetegnes ved økning av spesifikk IgG 1–2 dager etter infeksjonsstart, og i de fleste tilfeller er dette vanligvis ledsaget av en økning av IgM 20 dager etter symptomdebut.

Materialer som følger med og virkestoffer i hovedbestanddelene

1. Bioline™ Dengue Duo-settet inneholder følgende elementer for å utføre analysen:

Komponenter	Kat.nr. 11FK45	Kat.nr. 11FK46
Dengue NS1 Ag og Dengue IgG/IgM-kombinasjonsenhet, individuelt pakket inkludert tørkemiddelpose	10	25
Analysefortynningsmiddel for Dengue IgG/IgM-test	1 x 3ml	1 x 5ml
Kapillærpipetter for Dengue IgG/IgM-test (10 µl)	10	25
engangsdråpetellere for Dengue NS1 Ag-test	10	25
bruksanvisning	1	1

2. Virkestoffer i hovedbestanddelene

[Dengue NS1 Ag]

1 teststrimmel omfatter: Gullkonjugat: Monoklonal anti-dengue NS1 Ab-pool fra mus – gullkolloid (0,0623 ± 0,0200 µg), kylling IgY – gullkolloid (0,050 ± 0,015 µg), testlinje: Monoklonal anti-dengue NS1 Ab-pool fra mus (0,64 ± 0,20 µg), kontrollinje: Monoklonal anti-kylling-IgY fra mus (0,64 ± 0,20 µg)

[Dengue IgG/IgM]

1 teststrimmel omfatter: Gullkonjugat: Monoklonal anti-dengue Ab fra mus – gullkolloid (0,467 ± 0,014 µg), mus Ab – gullkolloid (0,002 ± 0,001 µg), testlinje G: Monoklonal anti-humant IgG fra mus (0,512 ± 0,154 µg), testlinje M: Monoklonal anti-humant IgM fra mus (0,32 ± 0,10 µg), kontrollinje: Geit anti-mus IgG (0,576 ± 0,173 µg)

Analysefortynningsmiddel omfatter:

100 mM fosfatbuffer (qs), natriumazid (0,01 w/v%)

Oppbevaring og stabilitet for settet

1. Testenheten er følsom for både varme og fuktighet, og må brukes og oppbevares riktig.
- Oppbevar testsettet ved mellom 1 °C og 30 °C. Ikke frys settet eller dets komponenter eller utsett dem for høye temperaturer.
- Utfør testen umiddelbart etter at du har tatt testenheten ut av folieposen for å unngå eksponering for fuktighet.
2. Ikke bruk settet eller komponentene i settet etter utløpsdatoen.
3. Ikke bruk enheten hvis posen er skadet eller forseglingen er brutt.

Advarsler

1. Kun til *in vitro*-diagnostisk bruk. Ikke bruk testenheten og settkomponentene på nytt.
2. Instruksjonene må følges nøye for å oppnå nøyaktige resultater. Enhver person som utfører en analyse med dette produktet, må være opplært i bruken og må ha erfaring med laboratorieprosedyrer.
3. Ikke spis eller royk ved håndtering av prøver.
4. Bruk vernehansker ved håndtering av prøver, og vask hendene grundig etterpå.
5. Unngå sprut eller aerosoldannelse fra prøver og analysefortynningsmiddel.
6. Fjern sol nøye med et passende desinfeksjonsmiddel.
7. Rengjør og kast alle prøver, reaksjonssett og potensielt kontaminerte materialer (dvs. prøveapplikator, testenhet) i en beholder for biologisk farlig avfall som om det er smittefarlig avfall.
8. Ikke drikk analysefortynningsmiddel.
9. Analysefortynningsmiddelet inneholder et merkevarebeskyttet antimikrobielt middel, natriumazid, som ikke utgjør noen fare for brukeren hvis vanlige forholdsregler for sikkerhet for laboratorier blir fulgt. Hvis analysefortynningsmiddel kommer i kontakt med øyne og/eller hud, vasker du det berørte området med såpe og vann umiddelbart. Hvis irritasjon eller tegn på toksisitet oppstår, oppsøk lege.

Prøvetaking og oppbevaring

Fullblod

- Ved hjelp av venepunksjon trekker du fullblod inn i prøvetakingsrøret (som inneholder antikoagulantia, inkludert heparin, EDTA og natriumsitrat).
- **⚠ Forsiktig:** Ikke bruk kapillærblod.
- Hvis blodprøver ikke testes umiddelbart, må de oppbevares i kjøleskap ved 2–8 °C.
- Hvis den oppbevares ved 2–8 °C, må blodprøven testes innen 3 dager.
- Ikke bruk en blodprøve som er lagret i mer enn 3 dager; det kan forårsake en uspesifikk reaksjon.
- Sørg for at blodprøver har romtemperatur (15–30 °C) før bruk.

Plasma eller serum

- [Plasma] Ved hjelp av venepunksjon trekker du fullblod inn i prøvetakingsrøret (som inneholder antikoagulantia, inkludert heparin, EDTA og natriumsitrat) og sentrifugerer deretter røret for å få en plasma-prøve.
- [Serum] Ved hjelp av venepunksjon trekker du fullblod inn i prøvetakingsrøret (som IKKE inneholder antikoagulantia). La blodet koagulere i 30 minutter og sentrifuger deretter røret for å få en serumsupernatant.
- Hvis plasma- eller serumprøver ikke testes umiddelbart, må de oppbevares i kjøleskap ved 2–8 °C. For oppbevaringsperioder lengre enn 2 uker kreves frysing (under -20 °C). Sørg for at prøver har romtemperatur (15–30 °C) før bruk.
- Plasma- eller serumprøver som inneholder et presipitat, kan gi inkonsekvente testresultater. Bruk standard laboratorteknikker for å klargjøre slike prøver for testing.

Forholdsregler

- Gjentatte fryse-tine-sykluser for prøven bør unngås.
- Antikoagulantia inkludert heparin, EDTA og sitrat påvirker ikke testresultatet. Bruk av andre antikoagulantia er ikke validert. Bruken av dem kan påvirke testresultatet.
- Bruk en ny engangsdråpeteller eller pipettespiss for hver prøve for å unngå krysskontaminering av prøver, som kan gi feilaktige resultater.

Testprosedyre (se figur)

- La alle settkomponenter og prøver nå romtemperatur (mellom 15 °C og 30 °C) før åpning og testing.
- Ta testenheten ut av folieposen og plasser den på et flatt, tørt underlag. Merk testenheten med pasientidentifikatoren. Utfør testen umiddelbart for å unngå å eksponere testenheten for fuktighet.

[Dengue NS1 Ag]

1. Med en medfølgende engangsdråpeteller dispenserer du 3 dråper (ca. 100 µl) prøve i prøvebrønnen "S".

[Dengue IgG/IgM]

2. Med den medfølgende kapillærpipetten på 10 µl trekker du prøven til påfyllingslinjen (10 µl) og dispenserer den deretter i den firkantede prøvebrønnen.
3. Dispenser 4 dråper (ca. 90–120 µl) analysefortynningsmiddel i den runde analysefortynningsmiddelbrønnen.

[Dengue NS1 og Dengue IgG/IgM]

4. Tolk testresultatene etter 15–20 minutter.
- **⚠ Forsiktig:** Ikke les av testresultater etter 20 minutter; avlesing etter 20 minutter kan gi uriktige resultater.

Testtolkning (se figur)

- **⚠ Forsiktig:** Utseendet til en testlinje, uansett hvor svak den er, må tolkes som positiv. For optimal diagnostisk effektivitet bør en person anses som positiv for dengueinfeksjon hvis én av de tre testlinjene (NS1, IgG eller IgM) vises.

Intern kvalitetskontroll

Bioline™ Dengue NS1 Ag-testen har "T" (testlinje) og "C" (kontrollinje) merket på overflaten av enheten. Bioline™ Dengue IgG/IgM-testen har "G" og "M" (testlinjer) og "C" (kontrollinje) merket på overflaten av enheten. Kontrollinjene brukes som prosedyrekontroller. Tilstedeværelsen av kontrollinjen viser at fortynningsmiddelet har blitt påført riktig og at de aktive ingrediensene i hovedbestanddelene på strimmelen var funksjonelle, men er ikke en garanti for at prøven er riktig påført og representerer ikke en positiv prøvekontroll.

Forventet verdi

NS1-antigen forventes å bli påvist 1 dag etter feberstart og vedvare opptil 9 dager ved både primær og sekundær dengueinfeksjon. Primær dengueinfeksjon kjennetegnes ved tilstedeværelse av påviselig IgM 3–5 dager etter infeksjonsstart. Sekundær dengueinfeksjon kjennetegnes ved økning av spesifikk IgG 1–2 dager etter infeksjonsstart, og i de fleste tilfeller er dette vanligvis ledsaget av en økning av IgM 20 dager etter symptomdebut.

Ytelseegenskaper

Bioline™ Dengue Duo-testsett er beregnet å ha 92,4 % (95 % CI: 86,1–95,9 %) med sensitivitet og 98,4 % (95 % CI: 95,5–99,5 %) med spesifisitet for Dengue NS1 Ag. Og for påvisning av Dengue IgG/IgM er den utviklet for å ha 94,2 % (95 % CI: 88,5–97,2 %) sensitivitet og 96,4 % (95 % CI: 93,0–98,2 %) spesifisitet.

Totalt 310 serumprøver samlet inn fra Filippinene ble testet med Bioline™ Dengue Duo i Korea, og prøvene ble bekreftet med RT-PCR.

Dengue NS1 Ag	Bioline™ Dengue Duo	
	Pos.	Neg.
Referanseanalyse: RT-PCR		
Pos. (118)	109	9
Neg. (192)	3	189

Totalt 340 serumprøver samlet inn fra Filippinene ble testet med Bioline™ Dengue Duo i Korea, og prøvene ble bekreftet via ELISA.

Dengue IgG/IgM	Bioline™ Dengue Duo	
	Pos.	Neg.
Referanseanalyse: ELISA		
Pos. (120)	113	7
Neg. (220)	8	212

Selv om vår tiltenkte ytelse er som ovenfor, kan resultatene fra individuelle laboratorier variere fra disse dataene fordi resultatene kan være unike for befolkningen det betjener avhengig av geografiske, pasient-, kostholds-, miljø- og andre faktorer. Høyeste sensitivitet og klinisk nytteverdi oppnås ved å vurdere alle tre resultatene (NS1 Ag, IgG og IgM) samlet versus referansemetodene. En person anses som positiv for dengueinfeksjon hvis noen av de tre testlinjene vises. Positive resultater på to eller flere testlinjer gir større tillit til diagnosen dengueinfeksjon.

Bioline™ Dengue Duo-testsett har blitt evaluert på 5 forskjellige steder som nedenfor.

Studiested 1

Generell sensitivitet for Bioline™ Dengue Duo knyttet til kliniske symptomer

Totalt 230 serumprøver samlet inn fra Filippinene ble testet med Bioline™ Dengue Duo i Korea, og prøvene ble bekreftet med RT-PCR.

	Dager etter symptomdebut	Antall prøver	Antall positive prøver (%)				
			IgG-antistoff	IgM-antistoff	Totalt antistoff (*)	NS1 Ag	Endelig resultat (2)
Primær infeksjon	1–7	52	9 (17,3)	21 (40,4)	23 (44,2)	43 (82,7)	49 (94,3)
	8–14	30	26 (86,7)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	30 (100)
	15–21	36	35 (97,2)	36 (100)	36 (100)	5 (13,9)	36 (100)
Sekundær infeksjon	1–7	36	24 (66,7)	8 (22,2)	24 (66,7)	24 (66,7)	32 (88,9)
	8–14	34	34 (100)	18 (53)	34 (100)	14 (41,2)	34 (100)
	15–21	42	42 (100)	24 (57,2)	42 (100)	3 (7,2)	42 (100)

*1: Dengue IgG og/eller IgM *2: Dengue NS1 og/eller IgG- og IgM-antistoff

Studiested 2

Totalt 292 paneler med plasma/sera samlet fra vietnamesiske pasienter ble testet på Bioline™ Dengue Duo ved Oxford Universitys kliniske forskning i Vietnam. Akutt 245 plasma/sera besto av 138 DENV-1, 91 DENV-2, 16 DENV-3 bekreftet ved RT-PCR. Og tolkingen av primær og sekundær var basert på MAC og GAC ELISA. 47 paneler ble samlet inn fra pasientene som ikke har tegn på dengue. Resultatene ble brukt til å fastslå sensitiviteten og spesifisiteten.

Resultat (95 % CI): Sensitivitet: 83,7 % (78,4–88,1 %), spesifisitet: 97,9 % (88,7–99,9 %)

Prøvetype	Prøvenr.	Bioline™ Dengue Duo	
		Pos.	Neg.
DENV-1	Primær	49	206
	Sekundær	87	
	Mellomliggende	2	
DENV-2	Primær	9	39
	Sekundær	81	
	Mellomliggende	1	
DENV-3	Primær	8	46
	Sekundær	8	
Annenn febersykdom		47	1

* 156 paneler ble samlet inn etter mindre enn 3 dager med sykdom, og 89 paneler ble samlet inn etter mer enn 3 dager med sykdom.