

NADAL[®] Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (test cassette)

REF 532919N-10



de	Gebrauchsanweisung	2	cs	Návod k použití	37
en	Instructions for use	7	fi	Käyttöohje	42
fr	Instructions d'utilisation	12		Symbols	47
es	Instrucciones de uso	17		Our Teams	48
it	Istruzioni per l'uso	22			
pl	Sposób użycia	27			
pt	Instruções de Utilização	32			



Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosier- vorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Keine Bestandteile des Test-Kits verwenden, wenn die Primärverpackung beschädigt ist.
- Tests sind nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Geben Sie Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld).
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Verwenden Sie den Puffer nicht, wenn er Verfärbungen oder Trübungen aufweist. Verfärbungen oder Trübungen können ein Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination sein.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits gearbeitet wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieses Test-Kit enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kennnisse der Herkunft und/oder des Gesundheitszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test kann mit Vollblut (aus Venen- oder Fingerpunktion), Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Vollblutprobenentnahme aus Fingerpunktion

- Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder säubern Sie sie mit einem Alkoholpad. Lassen Sie sie trocknen.
- Massieren Sie die Hand ohne dabei die Einstichstelle zu berühren, indem Sie die Hand abwärts in Richtung der Kuppe des Mittel- oder Ringfingers reiben.

- Stechen Sie die Haut mit einer sterilen Lanzette. Wischen Sie den ersten Blutstropfen ab.
- Reiben Sie vorsichtig die Hand vom Handgelenk zur Handfläche und zum Finger, damit sich auf dem Einstichpunkt ein runder Tropfen bildet.

Vollblutproben aus Fingerpunktion sollten unverzüglich getestet werden.

Vollblutproben aus Venenpunktion

Für die Aufbereitung von venösem Vollblut oder Plasma- proben sollten Probensammelbehälter mit Antikoagulanzen, wie EDTA, Natriumcitrat, oder Natriumheparin verwendet werden.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf.

Venöses Vollblut sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden, wenn der Test innerhalb von 24 Stunden nach Probenentnahme durchgeführt wird.

Frieren Sie die Vollblutproben nicht ein.

Serum- und Plasmaproben

Trennen Sie Serum oder Plasma so schnell wie möglich vom Blut, um eine Hämolyse zu vermeiden. Verwenden Sie nur klare, nicht hämolytierte Proben.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf. Serum- und Plasmaproben können bei 2-8°C bis zu 5 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei -20°C gelagert werden.

Bringen Sie Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur. Eingefrorene Proben sollten vor Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

Wenn Proben versendet werden sollten, sollten diese unter Einhaltung von geltenden Vorschriften für den Transport ätiologischer Krankheitserreger verpackt werden.

Icterische, lipämische, hämolytische, wärmebehandelte oder kontaminierte Proben können zu falschen Testergebnissen führen.

9. Testdurchführung

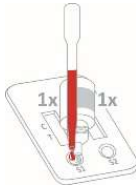
Bringen Sie alle Tests, Proben, Puffer und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

1. Entnehmen Sie die Testkassette dem Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich. Die besten Ergebnisse werden erhalten, wenn der Test unverzüglich nach der Öffnung des Folienbeutels durchgeführt wird. Kennzeichnen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
2. Legen Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.
3. a) **Dengue-Virus-NS1-Ag**
 - Halten Sie die Pipette senkrecht und geben Sie 1 Tropfen (ca. 30-45 µL) der

Vollblut-, Serum- oder Plasmaprobe in die Probenvertiefung (S1) der Testkassette.

- Halten Sie das Pufferfläschchen senkrecht und geben Sie 1 Tropfen (ca. 30-40 µL) Puffer in die Probenvertiefung (S1) der Testkassette.

Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S1) und geben Sie keine Lösung in das Ergebnisfeld.



b) anti-Dengue-Virus-IgG/IgM

- Halten Sie das Kapillarröhrchen senkrecht, saugen Sie damit die Probe (Vollblut/Serum/Plasma) bis zur Fülllinie (ca. 10 µL) auf und geben Sie sie in die Probenvertiefung (S2) der Testkassette.

Alternativ kann auch eine Mikropipette (10 µL) verwendet werden.

- Halten Sie das Pufferfläschchen senkrecht und geben Sie 2 Tropfen (ca. 70 µL) Puffer in die Probenvertiefung (S2) der Testkassette.

Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S2) und geben Sie keine Lösung in das Ergebnisfeld.



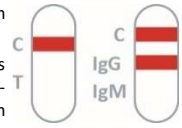
- Starten Sie den Timer.
- Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Testergebnis nach 15 Minuten aus. Positive Ergebnisse können schon nach 1 Minute sichtbar sein. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



Positiv für anti-Dengue-Virus-IgG:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen „C“. Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „IgG“.

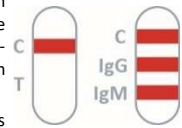
Das Testergebnis weist auf das Vorhandensein von anti-Dengue-Virus-IgG hin und deutet auf das Spätstadium einer Primärinfektion, eine frühe Sekundärinfektion oder eine vorherige Infektion hin.



Positiv für anti-Dengue-Virus-IgG und -IgM:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen „C“. Eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „IgM“ und eine weitere im Testlinienbereich „IgG“.

Das Testergebnis weist auf das Vorhandensein von anti-Dengue-Virus-IgG und -IgM hin und deutet auf eine gegenwärtige Primärinfektion oder eine frühe Dengue-Virus-Sekundärinfektion hin.

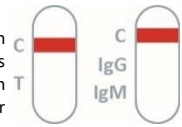


Hinweis:

Die Farbintensität im Testlinienbereich „T“, „IgG“ oder „IgM“ kann abhängig von der in der Probe vorhandenen Konzentration der Dengue-Virus-NS1-Antigene bzw. anti-Dengue-Virus-Antikörper variieren. Daher sollte jede Farbtonung im Testlinienbereich „T“, „IgG“ oder „IgM“ als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

Negativ:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen „C“. Es erscheinen keine farbigen Linien in den Testlinienbereichen „T“, „IgM“ oder „IgG“.

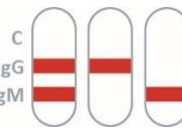


Ungültig:

Die Kontrolllinie (C) erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.

Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

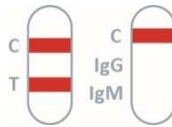


10. Testauswertung

Positiv für Dengue-Virus-NS1-Ag:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen „C“. Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „T“.

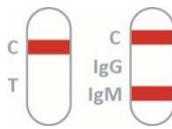
Das Testergebnis weist auf das Vorhandensein von Dengue-Virus-NS1-Ag hin und deutet auf eine frühe, akute Primär- oder Sekundärinfektion hin.



Positiv für anti-Dengue-Virus-IgM:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen „C“. Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „IgM“.

Das Testergebnis weist auf das Vorhandensein von anti-Dengue-Virus-IgM hin und deutet auf eine frische Dengue-Virus-Primärinfektion hin.



11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle: Jeweils eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die *Gute Laborpraxis (GLP)* empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch ausgelegt und sollte nur zum qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von Dengue-Virus-NS1-Antigenen sowie von anti-Dengue-Virus-IgG und -IgM in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben verwendet werden.
- Weder der quantitative Wert noch die Steigerungsrate/Senkungsrate der Konzentration von Dengue-Virus-NS1-Antigenen bzw. anti-Dengue Virus-Antikörpern können mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Die Genauigkeit des Tests ist von der Qualität der Probe abhängig. Falsche Ergebnisse können von einer unsachgemäßen Probennahme oder Probenlagerung herrühren (siehe Punkt 8. „Probennahme, -vorbereitung und -lagerung“).
- Einige Proben mit ungewöhnlich hohen Titern von heterophilen Antikörpern oder Rheumafaktoren können die Testergebnisse beeinträchtigen.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollten alle Ergebnisse im Zusammenhang mit weiterer klinischer Information, die dem Arzt zur Verfügung steht, ausgewertet werden.
- Der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test zeigt nur das Vorhandensein von Dengue-Virus-NS1-Antigenen und anti-Dengue-Antikörpern in der Probe und sollte nicht als einziges Kriterium für eine Diagnose von Dengue verwendet werden.
- Der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test kann nicht zur Bestimmung von Dengue-Virus-Serotypen verwendet werden.
- Serologische Kreuzreaktivitäten mit SARS-CoV-2 sowie durch die Flavivirus-Gruppe (St.-Louis-Enzephalitis, West-Nil-Virus, Japanische Enzephalitis und Gelbfieberviren) sind möglich. Positive Ergebnisse sollten unter Verwendung anderer Methoden bestätigt werden. Bei Impfentscheidungen sind diese Kreuzreaktivitäten zu berücksichtigen.
- Die andauernde An- oder Abwesenheit von Antikörpern kann nicht zur Bestimmung des Therapieerfolgs oder -versagens herangezogen werden.
- Ergebnisse von immunsupprimierten Patienten sollten mit Vorsicht ausgewertet werden.
- Sollte das Testergebnis negativ ausfallen, klinische Symptome aber weiter anhalten, empfiehlt es sich, zusätzliche Testungen unter Verwendung anderer klinischer Methoden, wie z. B. PCR oder ELISA durchzuführen. Ein negatives Ergebnis schließt zu keinem Zeitpunkt eine kurz zurückliegende Dengue-Infektion aus.

- Ein negatives Testergebnis für Dengue NS1 Ag kann auftreten, wenn die Menge an Dengue-Antigenen in der Probe unter der Nachweisgrenze des Tests liegt oder wenn die nachgewiesenen Dengue-Virus-NS1-Antigene während des Krankheitsstadiums, in dem die Probe entnommen wurde, nicht vorhanden waren. Manche Patienten können bei einer frühen oder wiederholten Dengue-Infektion keine nachweisbaren Konzentrationen an IgM-Antikörpern produzieren.
- Das Vorhandensein der nachweisbaren Dengue-Virus-NS1-Ag kann ein positives Ergebnis für eine frühe Dengue-Infektion bedeuten.
- Das Dengue-Virus-NS1-Antigen kann voraussichtlich 1 Tag nach Beginn des Fiebers nachgewiesen werden und kann sowohl bei primären als auch bei sekundären Dengue-Infektionen bis zu 9 Tage lang persistieren.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Klinische Leistungsmerkmale

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test wurde mit klinischen Proben evaluiert, deren Status für die rechte Seite der Testkassette (Dengue IgG/IgM Test) mittels ELISA und für die linke Seite der Testkassette (Dengue NS1 Ag Test) mittels PCR bestätigt wurde.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgM) vs. ELISA

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgM)		Dengue IgM ELISA		
		Positiv	Negativ	Total
Positiv		155	5	160
Negativ		8	169	177
Total		163	174	337

Diagnostische Sensitivität: 95,09% (90,62% - 97,49%)*

Diagnostische Spezifität: 97,13% (93,45% - 98,77%)*

Gesamtübereinstimmung: 96,14% (93,51% - 97,73%)*

*95% Konfidenzintervall

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgG) vs. ELISA

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgG)		Dengue IgG ELISA		
		Positiv	Negativ	Total
Positiv		138	7	145
Negativ		6	167	173
Total		144	174	318

Diagnostische Sensitivität: 95,83% (91,21% - 98,08%)*

Diagnostische Spezifität: 95,98% (91,93% - 98,04%)*

Gesamtübereinstimmung: 95,91% (93,13% - 97,60%)*

*95% Konfidenzintervall

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag) vs. PCR

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag)		PCR		
		Positiv	Negativ	Total
Positiv		155	7	162
Negativ		10	192	202
Total		165	199	364

Diagnostische Sensitivität: 93,94% (89,20% - 96,68%)*

Diagnostische Spezifität: 96,48% (92,92% - 98,29%)*

Gesamtübereinstimmung: 95,33% (92,65% - 97,06%)*
*95% Konfidenzintervall

Analytische Leistungsmerkmale

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Tests liegt bei 50 ng/mL rekombinatem Dengue-Virus-NS1 Antigen.

Interferierende Substanzen

Negative, schwach positive anti-Dengue-Virus-IgM und -IgG Serumproben sowie schwach positive Dengue-Virus-NS1-Ag Serumproben wurden mit den folgenden potentiell interferierenden Substanzen versetzt und zeigten keine Interferenz mit dem NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test.

Substanz	Konzentration
Albumin	60 g/L
Paracetamol (Acetaminophen)	0,2 mg/mL
Atropin	0,2 mg/mL
Acetylsalicylsäure	0,2 mg/mL
Ascorbinsäure	0,2 mg/mL
Bilirubin	0,2 mg/mL
Kreatinin	442 µmol/L
Natriumcitrat	3,80 %
Koffein	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Hämoglobin	2 g/L
Natriumheparin	3000 IU/mL
Glucose	55 mmol/L
Salicylsäure	4,34 mmol/L

Kreuzreaktivität

Negative, schwach positive anti-Dengue-Virus-IgM und -IgG Serumproben sowie schwach positive Dengue-Virus-NS1-Ag Serumproben wurden mit den folgenden potentiell interferierenden Substanzen versetzt und mit dem NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test getestet.

Substanz	Konzentration
anti-HAV IgM	Positiv
HBsAg	Positiv
anti-HCV IgM	Positiv
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Positiv
anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> IgM	Positiv
anti- <i>Treponema pallidum</i> IgG	Positiv
Rheumafaktoren	2500 IU/mL

Bei der Testung mit dem NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test wurde keine Kreuzreaktivität mit den Proben beobachtet.

Präzision

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit wurde durch das Testen von 20 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven anti-Dengue-Virus-IgM bzw. -IgG Serumproben sowie der gleichen Anzahl von negativen, schwach, mittel und stark positiven Dengue-Virus-NS1 Ag Serumproben mit 3 unabhängigen Chargen der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Tests bestimmt. >99% der Proben wurden richtig bestimmt (20/20 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 95,5% - 100%). Der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test zeigte eine akzeptable Wiederholbarkeit.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde durch das Testen von 5 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven anti-Dengue-Virus-IgM bzw. -IgG Serumproben sowie der gleichen Anzahl von negativen, schwach, mittel und stark positiven Dengue-Virus-NS1-Ag Serumproben bestimmt. Die Testungen wurden an 5 verschiedenen Tagen von 5 Anwendern mit 3 unabhängigen Chargen der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Tests an 3 Standorten durchgeführt. >99% der Proben wurden richtig bestimmt (375/375 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 99,8% - 100%). Der NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test zeigte eine akzeptable Reproduzierbarkeit.

14. Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Bei schwerwiegenden Vorkommnissen im Zusammenhang mit der Leistung des NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Tests informieren Sie bitte unverzüglich die nal von minden GmbH und die zuständige Behörde. Wenn möglich, den verwendeten Test und die entsprechenden Bestandteile des Test-Kits **nicht** entsorgen.

15. Referenzen

- Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. *Rev. Infect. Dis.* 1984; 6:251-264.
- Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239:476-481.
- Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
- Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 1995; 6:39-48.
- Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
- Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr (in German).* 1997; 147(19-20): 463-4.
- Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol.* 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 OM

1. Intended Use

The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection and differentiation of dengue virus NS1 antigens as well as anti-dengue virus IgG and IgM in human whole blood, serum or plasma specimens (see section 12 'Limitations'). The test is intended for use as an aid in the diagnosis of primary and secondary dengue virus infections in patients with febrile disease of unknown origin mainly associated with tropical regions, who are showing symptoms such as sudden fever with intense headaches and limb pain (see section 12 'Limitations'). The test procedure is not automated and requires no special training or qualification. The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

Dengue virus is a flavivirus transmitted primarily by tiger mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. It is widely distributed throughout the tropical and subtropical areas of the world and causes up to 100 million infections annually. Classic dengue infection is characterised by a sudden onset of fever, intense headache, myalgia, arthralgia and a rash.

Primary dengue infection causes IgM to increase to a detectable level approximately 5 days after the onset of fever. IgM generally persists for 30 to 90 days. Most dengue patients in endemic regions have secondary infections, resulting in high levels of specific IgG prior to, or simultaneous with, IgM response. Therefore, the detection of specific anti-dengue IgM and IgG can also help to distinguish between primary and secondary infections.

NS1 is one of 7 dengue virus non-structural proteins which are thought to be involved in viral replication. NS1 exists as a monomer in its immature form but is rapidly processed in the endoplasmic reticulum to form a stable dimer. A small amount of NS1 remains associated with intracellular organelles, where it is thought to be involved in viral replication. The rest of NS1 is found to be either associated with the plasma membrane or secreted as a soluble hexadimer. NS1 is essential for viral viability but its precise biological function is unknown. Antibodies produced in response to NS1 in viral infections can cross-react with cell surface antigens on epithelial cells and platelets. This may have implications in the development of dengue haemorrhagic fever.

3. Test Principle

The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection and differentiation of dengue virus NS1 antigens, as well as anti-dengue virus IgG and IgM in human whole blood, serum or plasma specimens.

The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test contains two internal test strips (left side of the test cassette: Dengue NS1 Ag Test; right side of the test cassette: Dengue IgG/IgM Test).

Anti-dengue virus NS1 antibodies are immobilised in the test line region 'T' of the membrane. Anti-dengue virus IgM and anti-dengue virus IgG are immobilised in the test line regions of the membrane labelled 'IgM' and 'IgG' respectively.

During the test, dengue virus NS1 antigens, if present in the specimen, bind to anti-dengue virus NS1 antibodies, which are conjugated to coloured particles and precoated onto the conjugate pad of the test cassette. If specific anti-dengue virus IgM or anti-dengue virus IgG are present in the specimen, they bind to the dengue virus antigens conjugated to coloured particles and precoated onto the conjugate pad of the test cassette. The mixture then migrates along the membrane by capillary action and interacts with the reagents on the membrane. The complexes are then captured by anti-dengue virus NS1 antibodies as well as anti-dengue virus IgM and anti-dengue virus IgG in the test line regions 'T' as well as 'IgM' and 'IgG' respectively. Excess coloured particles are captured in each control line region 'C'. The presence of a coloured line in the test line region 'T' and/or 'IgM' and/or 'IgG' indicates a positive result. The absence of a coloured line in the test line region 'T' and/or 'IgM' and/or 'IgG' indicates a negative result.

The formation of a coloured line in each control line region 'C' serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 10 NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM test cassettes, incl. disposable pipettes (40 µL) for dengue NS1 Ag
- 10 capillary tubes (10 µL) for dengue IgG/IgM
- 1 buffer (3 mL)*
- 1 package insert

*containing the following preservative: sodium azide: <0.1%.

No hazard labelling for sodium azide is required according to Regulation (EC) No 1272/2008 CLP. Concentrations are below the exemption threshold of 0.1%.

5. Additional Materials Required

- Specimen collection containers (appropriate for specimen material to be tested)
- Centrifuge (for serum or plasma specimens only)
- Alcohol pads
- Lancets (for fingerstick whole blood specimens only)
- Timer

6. Storage and Stability

Test kits should be stored at 2-30°C until the indicated expiry date. Test cassettes are stable until the expiry date printed on the foil pouches. Test cassettes must remain in the sealed foil pouches until use. Do not freeze test kits. Do not use tests beyond the expiry date indicated on the packaging. Care should be taken to protect test kit components from contamination. Do not use test kit components if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to inaccurate results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the entire instructions for use prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the packaging.

- Do not use test kit components if the primary packaging is damaged.
- Tests are for single use only.
- Do not add specimens to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not use the buffer if it is discoloured or turbid. Discolouration or turbidity may be a sign of microbial contamination.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be disposed of in accordance with local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test can be performed using whole blood (from venipuncture or fingerstick), serum or plasma.

To collect fingerstick whole blood specimens:

- Wash the patient's hand with soap and warm water or clean it with an alcohol pad. Allow it to dry.
- Massage the hand, without touching the puncture site, by rubbing along the hand towards the fingertip of the middle or ring finger.
- Puncture the skin with a sterile lancet. Wipe away the first drop of blood.
- Gently rub the hand from the wrist to the palm, and then to the finger to form a rounded drop of blood over the puncture site.

Fingerstick whole blood should be tested immediately.

Venipuncture whole blood specimens

Containers containing anticoagulants, such as EDTA, sodium citrate or heparin sodium should be used for the preparation of venous whole blood or plasma specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time.

If the test is to be run within 24 hours of specimen collection, whole blood collected by venipuncture should be stored at 2-8°C.

Do not freeze whole blood specimens.

Serum and plasma specimens

Separate serum or plasma from blood as soon as possible to avoid haemolysis. Use only clear, non-haemolysed specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time. Serum and plasma specimens can be stored at 2-8°C for up to 5 days. For long-term storage, specimens should be kept at -20°C.

Bring specimens to room temperature prior to testing. Frozen specimens should be completely thawed and mixed well prior to testing. Specimens should not be frozen and thawed repeatedly.

If specimens are to be shipped, they should be packed in compliance with all applicable regulations for the transportation of etiologic agents.

Icteric, lipemic, haemolysed, heat-treated and contaminated specimens may lead to inaccurate test results.

9. Test Procedure

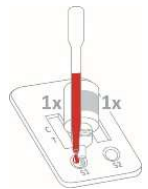
Bring tests, specimens, buffer and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

1. Remove the test cassette from the foil pouch and use it as soon as possible. The best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch. Label the test cassette with the patient or control identification.
2. Place the test cassette on a clean and level surface.

3. a) Dengue virus NS1 Ag

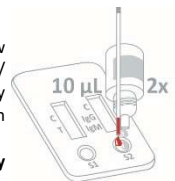
- Holding a pipette vertically, transfer 1 drop (approximately 30-45 µL) of the whole blood, serum or plasma specimen to the specimen well (S1) of the test cassette.
- Holding the buffer bottle vertically, add 1 drop (approximately 30-40 µL) of buffer to the specimen well (S1).

Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S1) and do not add any solution to the result area.



b) Anti-dengue virus IgG/IgM

- Holding the capillary tube vertically, draw the specimen (whole blood/ serum/ plasma) up to the fill line (approximately 10 µL) and add it to the specimen well (S2) of the test cassette.
- **Alternatively, a micropipette (10 µL) may be used.**
- Holding the buffer bottle vertically, add 2 drops (approximately 70 µL) of buffer to the specimen well (S2).



Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S2) and do not add any solution to the result area.

4. Start the timer.

5. Wait for the coloured line(s) to appear. Read the test result after 15 minutes. Positive results can be visible in as little as 1 minute. Do not interpret the result after more than 20 minutes.

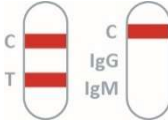


10. Result Interpretation

Positive for dengue virus NS1 Ag:

A coloured line develops in each control line region 'C'. Another coloured line develops in the test line region 'T'.

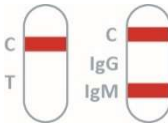
The test result indicates the presence of dengue virus NS1 Ag, suggesting an early, acute primary or secondary infection.



Positive for anti-dengue virus IgM:

A coloured line develops in each control line region 'C'. Another coloured line develops in the test line region 'IgM'.

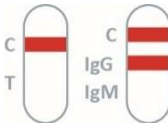
The test result indicates the presence of anti-dengue virus IgM, suggesting a fresh primary dengue virus infection.



Positive for anti-dengue virus IgG:

A coloured line develops in each control line region 'C'. Another coloured line develops in the test line region 'IgG'.

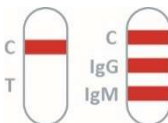
The test result indicates the presence of anti-dengue virus IgG, suggesting the late stage of a primary, early secondary or previous infection.



Positive for anti-dengue virus IgM and IgG:

A coloured line develops in each control line region 'C'. A coloured line develops in the test line region 'IgM' and another one develops in the test line region 'IgG'.

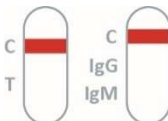
The test result indicates the presence of anti-dengue virus IgM and IgG, suggesting a current primary or early secondary dengue virus infection.



Note: The colour intensity in the test line regions 'T', 'IgM' or 'IgG' may vary depending on the concentration of dengue virus NS1 antigens or anti-dengue virus antibodies in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region 'T', 'IgG' or 'IgM' should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the analyte concentration in the specimen.

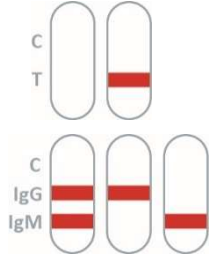
Negative:

A coloured line develops in each control line region 'C'. No coloured lines develop in the test line regions 'T', 'IgM' or 'IgG'.



Invalid:

The control line (C) fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded.



Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for control line failure.

11. Quality Control

The internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in each control line region (C) is considered an internal positive procedural control. It confirms sufficient specimen volume, correct procedural technique and adequate membrane wicking.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of external control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test is for professional *in-vitro* diagnostic use only. The test should be used for the qualitative detection and differentiation of dengue virus NS1 antigens as well as anti-dengue virus IgG and IgM in human whole blood, serum or plasma specimens only.
- Neither the quantitative value nor the rate of increase/decrease in the concentration of dengue virus NS1 antigens or anti-dengue virus antibodies can be determined using this qualitative test.
- The accuracy of the test depends on the quality of the specimen. Inaccurate test results may occur due to improper specimen collection or storage (see section 8 'Specimen Collection and Preparation').
- Some specimens containing unusually high titers of heterophile antibodies or rheumatoid factor may affect test results.
- As with all diagnostic tests, all results should be interpreted by a physician in conjunction with other available clinical information.
- The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test only detects the presence of dengue virus NS1 antigens and anti-dengue virus antibodies in specimens and should not be used as the sole criterion for a diagnosis of dengue.
- The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test cannot be used to determine dengue virus serotypes.
- Serological cross-reactivity with SARS-CoV-2 as well as across the flavivirus group (St. Louis encephalitis, West Nile virus, Japanese encephalitis and yellow fever viruses) is possible. Positive results should be confirmed using other methods. These cross-reactivities must be taken into account when making vaccination-related decisions.

- The continued presence or absence of antibodies cannot be used to determine the success or failure of therapy.
- Results from immunosuppressed patients should be interpreted with caution.
- If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods, such as PCR or ELISA is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of a recent dengue infection.
- A negative test result for dengue virus NS1 antigens can occur if the quantity of dengue virus NS1 antigens present in the specimen is below the detection limit of the test or if the detected dengue virus NS1 antigens were not present during the stage of disease in which the specimen was collected. Some patients may not produce detectable levels of IgM antibodies in early or repeated dengue infections.
- The presence of detectable dengue virus NS1 Ag may mean a positive result for an early dengue infection.
- Dengue virus NS1 antigen is expected to be detectable 1 day after the onset of fever and may persist for up to 9 days in both primary and secondary dengue infections.

13. Performance Characteristics

Clinical performance

Diagnostic sensitivity and specificity

The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test was evaluated using clinical specimens whose status was confirmed using ELISA for the right side of the test cassette (Dengue IgG/IgM Test) and using PCR for the left side of the test cassette (Dengue NS1 Ag Test).

The results are presented in the following tables:

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgM) vs. ELISA

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgM)	Dengue IgM ELISA			Total
		Positive	Negative	
	Positive	155	5	
Negative	8	169	177	
Total	163	174	337	

Diagnostic sensitivity: 95.09% (90.62% - 97.49%)*

Diagnostic specificity: 97.13% (93.45% - 98.77%)*

Overall agreement: 96.14% (93.51% - 97.73%)*

*95% confidence interval

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgG) vs. ELISA

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgG)	Dengue IgG ELISA			Total
		Positive	Negative	
	Positive	138	7	
Negative	6	167	173	
Total	144	174	318	

Diagnostic sensitivity: 95.83% (91.21% - 98.08%)*

Diagnostic specificity: 95.98% (91.93% - 98.04%)*

Overall agreement: 95.91% (93.13% - 97.60%)*

*95% confidence interval

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag) vs. PCR

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag)	PCR			Total
		Positive	Negative	
	Positive	155	7	
Negative	10	192	202	
Total	165	199	364	

Diagnostic sensitivity: 93.94% (89.20% - 96.68%)*

Diagnostic specificity: 96.48% (92.92% - 98.29%)*

Overall agreement: 95.33% (92.65% - 97.06%)*

*95% confidence interval

Analytical performance

Detection limit

The detection limit of the NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test is 50 ng/mL recombinant dengue virus NS1 antigen.

Interfering substances

Negative, low positive anti-dengue virus IgM and IgG serum specimens as well as low positive dengue virus NS1 Ag serum specimens spiked with the following potentially interfering substances showed no interference with the NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test.

Substance	Concentration
Albumin	60 g/L
Paracetamol (Acetaminophen)	0.2 mg/mL
Atropine	0.2 mg/mL
Acetylsalicylic acid	0.2 mg/mL
Ascorbic acid	0.2 mg/mL
Bilirubin	0.2 mg/mL
Creatinine	442 µmol/L
Sodium citrat	3.80 %
Caffeine	0.2 mg/mL
EDTA	3.4 µmol/L
Haemoglobin	2 g/L
Heparin sodium	3000 IU/mL
Glucose	55 mmol/L
Salicylic acid	4.34 mmol/L

Cross-reactivity

Negative, low positive anti-dengue virus IgM and IgG serum specimens as well as low positive dengue virus NS1 Ag serum specimens were spiked with the following potentially cross-reacting substances and tested using the NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test.

Substance	Concentration
anti-HAV IgM	Positive
HBsAg	Positive
anti-HCV IgM	Positive
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Positive
anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> IgM	Positive
anti- <i>Treponema pallidum</i> IgG	Positive
Rheumatoid factors (RF)	2500 IU/mL

No cross-reactivity with the specimens was observed when tested using the NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test.

Precision

Repeatability

Repeatability was established by testing 20 replicates of negative, low, medium and high positive anti-dengue virus IgM and IgG serum specimens respectively, as well as the same number of negative, low, medium and high positive dengue virus NS1 Ag serum specimens using 3 lots of the NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM tests. >99% of the specimens were correctly identified (20/20 correct tests per concentration, 95% confidence interval: 95.5% - 100%). The

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test demonstrated acceptable repeatability.

Reproducibility

Reproducibility was established by testing 5 replicates of negative, low, medium and high positive anti-dengue virus IgM and IgG serum specimens respectively, as well as the same number of negative, low, medium and high positive dengue virus NS1 Ag serum specimens. Testing was performed by 5 operators using 3 independent NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM test lots at 3 sites on 5 separate days. >99% of the specimens were correctly identified (375/375 correct tests per concentration, 95% confidence interval: 99.8% - 100%). The NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test demonstrated acceptable reproducibility.

14. Serious incident reporting

In the case of any serious incidents related to the performance of the NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test, please inform nal von minden GmbH and the competent authority immediately. If still possible, do **not** dispose of the used test and the corresponding test kit components.

15. References

1. Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. *Rev. Infect. Dis.* 1984; 6:251-264.
2. Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239:476-481.
3. Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
4. Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 1995; 6:39-48.
5. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
6. Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jul; 10(4): 725-8.
7. Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr* (in German). 1997; 147(19-20): 463-4.
8. Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol.* 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 OM

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM est un immunodosage chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative et la différenciation des antigènes NS1 de la dengue et des IgG et IgM anti-dengue dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains (cf. Chapitre 12 « Limites du test »). Le test est une aide au diagnostic des infections primaires et secondaires par le virus de la dengue chez les patients souffrant de maladies fébriles d'origine inconnue, apparaissant surtout dans les régions tropicales, et présentant des symptômes tels qu'une fièvre soudaine accompagnée de maux de tête et de douleurs articulaires intenses. Le test n'est pas automatisé et ne nécessite aucune formation ou qualification particulière. Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique

Le virus de la dengue fait partie de la famille des flavivirus et est transmis par les moustiques tigres, principalement du genre *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. Il est largement présent dans les régions tropicales et subtropicales du globe et est à l'origine de près de 100 millions d'infections par an. Les symptômes classiques des infections par la dengue sont une apparition soudaine de la fièvre, de forts maux de tête, une myalgie, une arthralgie et des réactions cutanées.

Les infections primaires à la dengue provoquent une augmentation des IgM jusqu'à atteindre une concentration détectable à partir de 5 jours environ après apparition de la fièvre. De manière générale, les IgM sont détectables de 30 à 90 jours. La plupart des patients touchés par la dengue résidant dans des régions endémiques sont atteints d'infections secondaires qui peuvent provoquer une augmentation de la concentration en IgG spécifiques, avant ou en même temps qu'une réaction aux IgM. Ainsi, la détection des IgM et IgG anti-dengue spécifiques peut également permettre de différencier une infection primaire d'une infection secondaire.

L'antigène NS1 est une des sept protéines non structurales du virus de la dengue qui sont supposées être impliquées dans la réplication virale. Le NS1 existe en tant que monomère dans sa forme impure, mais il est transformé dans le réticulum endoplasmique pour former un dimère stable. Une faible quantité de NS1 reste associée à des organelles intracellulaires où elle joue un rôle lors de la réplique virale. Le reste des protéines NS1 se lie soit à la membrane plasmique ou est sécrété sous forme d'hexamère solide. Le NS1 est essentiel pour la viabilité du virus, cependant sa fonction biologique exacte n'est pas connue. Les anticorps produits en réponse au NS1 lors d'infections virales peuvent provoquer des réactions croisées avec les antigènes de surface des cellules épithéliales et les plaquettes sanguines. Ceci a vraisemblablement un impact direct sur le développement des fièvres hémorragiques de la dengue.

3. Principe du test

Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM est un immunodosage chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative et la différenciation des antigènes NS1 de la

dengue et des IgG et IgM anti-dengue dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains.

Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM contient deux bandelettes de test internes (côté gauche de la cassette : test dengue NS1 Ag, côté droit de la cassette : test dengue IgG/IgM).

Les anticorps anti-dengue NS1 sont immobilisés à hauteur de la zone de test « T » de la membrane. Les IgM anti-dengue et les IgG anti-dengue sont immobilisées sur les zones de test respectives « IgM » et « IgG » de la membrane.

Pendant le test, les antigènes NS1 de la dengue, s'ils sont présents dans l'échantillon, se lient aux anticorps anti-dengue NS1 qui sont conjugués à des particules colorées et immobilisés sur le tampon de conjugué de la cassette de test. Si des IgM anti-dengue ou des IgG anti-dengue sont présentes dans l'échantillon, elles se lient aux antigènes de la dengue qui sont conjugués à des particules colorées et immobilisés sur le tampon de conjugué de la cassette de test. Le mélange migre ensuite par capillarité chromatographique le long de la membrane et réagit avec les réactifs de la membrane. Les complexes sont ensuite immobilisés par des anticorps anti-dengue NS1 et par des IgM anti-dengue et des IgG anti-dengue dans les zones de test « T » ainsi que « IgM » et « IgG ». Les particules colorées excédentaires sont immobilisées dans la zone de contrôle « C » respective. La présence d'une ligne colorée dans la zone de test « T » et/ou « IgM » et/ou « IgG » indique un résultat positif. L'absence d'une ligne colorée dans la zone de test « T » et/ou « IgM » et/ou « IgG » indique un résultat négatif.

L'apparition d'une ligne colorée dans la zone de contrôle « C » sert de procédure de contrôle et indique qu'un volume suffisant d'échantillon a été ajouté et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Réactifs et matériels fournis

- 10 cassettes de test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, avec pipettes à usage unique (40 µL) pour dengue NS1 Ag
- 10 tubes capillaires (10 µL) pour dengue IgG/IgM
- 1 solution tampon « Buffer » (3 mL)*
- 1 notice d'utilisation

*contient le conservateur suivant : azide de sodium : <0,1 %.

Selon le règlement européen n° 1272/2008, le CLP, aucun étiquetage de danger n'est requis pour l'azide de sodium, les concentrations étant inférieures au seuil fixé de 0,1 %.

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Récipient collecteur (adapté à l'échantillon à tester)
- Centrifugeuse (pour les échantillons de sérum ou de plasma uniquement)
- Tampons imprégnés d'alcool
- Lancettes (pour les prélèvements de sang total par ponction du doigt uniquement)
- Chronomètre

6. Conservation et stockage des réactifs

Les kits doivent être conservés entre 2°C et 30°C jusqu'à la date de péremption indiquée. Les cassettes sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage

d'origine. La cassette de test doit rester dans son emballage d'origine jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler les tests. Ne pas utiliser les tests après expiration de la date de péremption figurant sur l'emballage. Protéger les composants du kit de toute contamination. Ne pas utiliser les composants du kit de test s'ils présentent des signes de contamination microbienne ou de précipitation. La contamination biologique des doseurs, récipients et réactifs peut entraîner des résultats erronés.

7. Avertissements et précautions

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Lire la notice d'utilisation attentivement avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après expiration de la date de péremption figurant sur l'emballage.
- Ne pas utiliser les composants des tests si l'emballage primaire est endommagé.
- Tests à usage unique.
- Ne pas déposer d'échantillon sur la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats) afin d'éviter toute contamination.
- Pour éviter toute contamination croisée, un collecteur d'échantillons dédié doit être utilisé pour chaque échantillon.
- Ne pas interchanger ou mélanger les composants de différents kits.
- Ne pas utiliser le tampon s'il présente une décoloration ou une turbidité. Une décoloration ou une turbidité peut être un signe de contamination microbienne.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation des échantillons et des kits.
- Lors de la manipulation des échantillons, porter des vêtements de protection : blouse, gants à usage unique et lunettes de protection.
- Manipuler tous les échantillons comme de potentiels composants infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce kit de test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et/ou l'état sanitaire des animaux ne garantit pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les produits utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières potentiellement infectieuses et sont à manipuler en appliquant les mesures de protection nécessaires (par ex. éviter d'avaler ou d'inhaler).
- La température peut influencer les résultats du test.
- Le matériel utilisé pour la réalisation des tests doit être éliminé selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM s'effectue sur des échantillons de sang total (par ponction veineuse ou du doigt), de sérum ou de plasma.

Échantillons de sang total par ponction du doigt

- Laver la main du patient au savon et à l'eau tiède ou la désinfecter avec un tampon imprégné d'alcool. La laisser sécher.

- Masser la main sans toucher le point de ponction en frottant la main vers le haut du majeur ou de l'annulaire.
- Piquer la peau avec une lancette stérile. Essuyer la première goutte de sang.
- Frotter doucement la main du poignet vers la paume jusqu'au doigt, de sorte qu'une goutte de sang se forme sur le point de ponction.

Les échantillons de sang total par ponction du doigt doivent être analysés immédiatement.

Échantillons de sang total par ponction veineuse

Pour le prélèvement des échantillons de sang total ou de plasma par ponction veineuse, utiliser des récipients collecteurs contenant des anticoagulants, tels que EDTA de sodium, citrate de sodium ou héparine de sodium.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée.

Si le test est effectué dans les 24 heures suivant le prélèvement, le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2°C et 8°C.

Ne pas congeler les échantillons de sang total.

Échantillons de sérum et de plasma

Séparer le sérum ou le plasma du sang dès que possible pour éviter l'hémolyse. Utiliser exclusivement des échantillons purs et non hémolysés.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée. Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être conservés jusqu'à 5 jours entre 2°C et 8°C. Pour une conservation plus longue, les échantillons doivent être conservés à une température de -20°C.

Avant de commencer le test, amener les échantillons à température ambiante. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et bien mélangés avant la réalisation du test. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

Si des échantillons doivent être expédiés, veiller à les emballer conformément aux réglementations en vigueur concernant le transport des agents pathogènes étiologiques.

Des échantillons ictériques, lipémiques, hémolytiques, traités thermiquement ou contaminés peuvent fausser les résultats du test.

9. Procédure du test

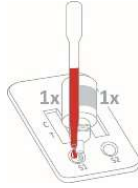
Amener tous les tests, échantillons, tampons et/ou contrôles à température ambiante (entre 15°C et 30°C) avant la réalisation du test.

1. Retirer la cassette de son emballage et réaliser le test rapidement. Les meilleurs résultats sont obtenus si le test est exécuté immédiatement après ouverture de l'emballage. Inscire sur la cassette le numéro d'identification du patient ou du contrôle.
2. Placer la cassette sur une surface propre et plane.
3. **a) Pour dengue NS1 Ag**
 - Tenir la pipette à la verticale et déposer 1 goutte (env. 30-45 µL) de l'échantillon

de sang total, sérum ou de plasma dans le puits de dépôt (S1) de la cassette.

- Tenir le flacon de solution tampon à la verticale et ajouter 1 goutte de tampon (env. 30-40 µL) dans le puits de dépôt (S1) de la cassette.

Éviter la formation de bulles d'air dans le puits de dépôt (S1) et ne pas déposer de solution dans la fenêtre de lecture des résultats.



b) Pour IgG/IgM anti-dengue

- Tenir le tube capillaire à la verticale, aspirer ainsi l'échantillon (sang total/sérum/plasma) jusqu'à la ligne de remplissage (env. 10 µL) et le déposer dans le puits de dépôt (S2) de la cassette.

Une micropipette (10 µL) peut également être utilisée.

- Tenir le flacon de solution tampon à la verticale et ajouter 2 gouttes de tampon (env. 70 µL) dans le puits de dépôt (S2) de la cassette.

Éviter la formation de bulles d'air dans le puits de dépôt (S2) et ne pas déposer de solution dans la fenêtre de lecture des résultats.



4. Démarrer le chronomètre.

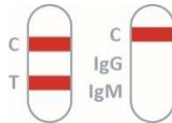
5. Attendre que la/les ligne(s) colorée(s) apparaisse(nt). Interpréter le résultat du test après 15 minutes. Des résultats positifs peuvent être visibles après seulement 1 minute. Ne plus interpréter le résultat du test après 20 minutes.



10. Interprétation des résultats

Résultat positif au test dengue NS1 Ag :

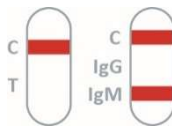
Une ligne colorée apparaît respectivement dans chaque zone de contrôle « C ». Une autre ligne colorée apparaît dans la zone de test « T ».



Le résultat du test indique la présence de dengue NS1 Ag et évoque une infection primaire ou secondaire précoce et aiguë.

Résultat positif au test d'IgM anti-dengue :

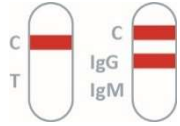
Une ligne colorée apparaît respectivement dans chaque zone de contrôle « C ». Une autre ligne colorée apparaît dans la zone de test « IgM ».



Le résultat du test indique la présence d'IgM anti-dengue et évoque une infection primaire récente par le virus de la dengue.

Résultat positif au test d'IgG anti-dengue :

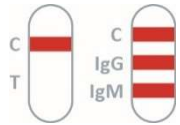
Une ligne colorée apparaît respectivement dans chaque zone de contrôle « C ». Une autre ligne colorée apparaît dans la zone de test « IgG ».



Le résultat du test indique la présence d'IgG anti-dengue et évoque le stade avancé d'une infection primaire, une infection secondaire précoce ou une infection antérieure.

Résultat positif au test d'IgG et IgM anti-dengue :

Une ligne colorée apparaît respectivement dans chaque zone de contrôle « C ». Une ligne colorée apparaît dans la zone de test « IgM » et une autre dans la zone de test « IgG ».



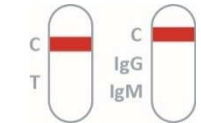
Le résultat du test indique la présence d'IgG et d'IgM anti-dengue et évoque une infection primaire actuelle ou une infection secondaire précoce par le virus de la dengue.

Remarque :

L'intensité de la couleur des lignes de test « T », « IgG » ou « IgM » peut varier en fonction de la concentration d'antigènes NS1 de la dengue ou d'anticorps anti-dengue. Par conséquent, toute apparition de lignes dans les zones de test « T », « IgG » ou « IgM » doit être considérée comme un résultat positif. Notez que ce test est uniquement un test qualitatif et qu'il ne peut déterminer la concentration en analytes dans l'échantillon.

Négatif :

Une ligne colorée apparaît respectivement dans chaque zone de contrôle « C ». Aucune ligne colorée n'apparaît dans les zones de test « T », « IgM » ou « IgG ».



Non valide :

La ligne de contrôle (C) n'apparaît pas. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation impartis doivent être jetés.



Contrôler la procédure d'exécution du test et renouveler le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste, cesser d'utiliser le kit de test et contacter votre distributeur.



Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

11. Contrôle qualité

La cassette de test contient un contrôle de procédure interne :

Une ligne colorée apparaissant dans la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume de prélèvement est suffisant, que la manipulation a été effectuée correctement et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les *Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL)* recommandent l'utilisation de matériel de contrôle externe afin de vérifier la performance du kit de test.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM est réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel et ne doit être utilisé que pour la détection qualitative et la différenciation des antigènes NS1 de la dengue et des IgG et IgM anti-dengue dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains.
- Ce test qualitatif ne permet ni de déterminer la valeur quantitative ni le taux d'augmentation/diminution de la concentration des antigènes NS1 de la dengue ou des anticorps anti-dengue.
- La précision du test dépend de la qualité de l'échantillon. Des résultats erronés peuvent résulter d'un prélèvement ou d'un stockage inapproprié de l'échantillon (cf. Chapitre 8 « Recueil, préparation et conservation des échantillons »).
- Certains échantillons présentant des titres anormalement élevés d'anticorps hétérophiles ou de facteurs rhumatoïdes peuvent interférer avec les résultats du test.
- Comme pour tous les tests de diagnostic, tous les résultats doivent être évalués en lien avec les autres informations cliniques à la disposition du médecin.
- Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM indique exclusivement la présence d'antigènes NS1 de la dengue et d'anticorps anti-dengue dans l'échantillon et ne peut être employé comme seul critère de diagnostic de la dengue.
- Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM ne peut pas être utilisé pour déterminer les sérotypes du virus de la dengue.
- Une réaction croisée sérologique avec le SARS-CoV-2 ainsi qu'avec le groupe des flavivirus (encéphalite de Saint-Louis, virus du Nil occidental, encéphalite japonaise et virus de la fièvre jaune) est possible. Les résultats positifs doivent être confirmés par d'autres méthodes. Ces réactions croisées doivent être prises en compte lors de la prise de décisions relatives à la vaccination.
- La présence ou l'absence continue d'anticorps ne permet pas de prouver le succès ou l'échec d'un traitement.
- Les résultats des patients immunodéprimés sont à interpréter avec prudence.
- Si les résultats du test sont négatifs mais que les symptômes cliniques persistent, il est recommandé d'effectuer des tests supplémentaires en utilisant d'autres méthodes cliniques, telles que la PCR ou l'ELISA. Un résultat négatif n'exclut à aucun moment la possibilité d'une infection récente au virus de la dengue.
- Un test dengue NS1 Ag peut s'avérer négatif si la quantité des antigènes de la dengue contenue dans l'échantillon se situe en deçà du seuil de détection du test ou si les antigènes NS1 de la dengue détectés n'étaient pas présents au stade de la maladie auquel le test a été réalisé. Certains patients peuvent ne pas produire de concentrations

détectables d'anticorps IgM en cas d'infection précoce ou répétée par la dengue.

- La présence des antigènes NS1 de la dengue détectables peut signifier un résultat positif pour une infection précoce à la dengue.
- L'antigène NS1 de la dengue peut être détecté un jour après l'apparition de la fièvre et peut persister jusqu'à neuf jours dans les infections primaires et secondaires de la dengue.

13. Performance du test

Performance clinique

Sensibilité et spécificité diagnostiques

Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM a été évalué avec des échantillons cliniques dont le statut a été confirmé par ELISA pour le côté droit de la cassette (test dengue IgG/IgM) et par PCR pour le côté gauche de la cassette (test dengue NS1 Ag).

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants :

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM)	Dengue IgM ELISA		
	Positif	Négatif	Total
Positif	155	5	160
Négatif	8	169	177
Total	163	174	337

Sensibilité diagnostique : 95,09 % (90,62 % - 97,49 %)*

Spécificité diagnostique : 97,13 % (93,45 % - 98,77 %)*

Concordance totale : 96,14 % (93,51 % - 97,73 %)*

*95 % intervalle de confiance

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG)	Dengue IgG ELISA		
	Positif	Négatif	Total
Positif	138	7	145
Négatif	6	167	173
Total	144	174	318

Sensibilité diagnostique : 95,83 % (91,21 % - 98,08 %)*

Spécificité diagnostique : 95,98 % (91,93 % - 98,04 %)*

Concordance totale : 95,91 % (93,13 % - 97,60 %)*

*95 % intervalle de confiance

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag) vs. PCR

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag)	PCR		
	Positif	Négatif	Total
Positif	155	7	162
Négatif	10	192	202
Total	165	199	364

Sensibilité diagnostique : 93,94 % (89,20 % - 96,68 %)*

Spécificité diagnostique : 96,48 % (92,92 % - 98,29 %)*

Concordance totale : 95,33 % (92,65 % - 97,06 %)*

*95 % intervalle de confiance

Performances analytiques

Seuil de détection

Le seuil de détection du test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM est de 50 ng/mL d'antigène recombinant NS1 de la dengue.

Substances interférentes

Des échantillons de sérum négatifs et faiblement positifs en IgM et IgG anti dengue, ainsi que des échantillons de sérum faiblement positifs en NS1 Ag ont été mélangés avec les substances potentiellement interférentes suivantes et n'ont montré aucune interférence avec le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Substance	Concentration
Albumine	60 g/L
Paracétamol (acétaminophène)	0,2 mg/mL
Atropine	0,2 mg/mL
Acide acétylsalicylique	0,2 mg/mL
Acide ascorbique	0,2 mg/mL
Bilirubine	0,2 mg/mL
Créatinine	442 µmol/L
Citrate de sodium	3,80 %
Caféine	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Hémoglobine	2 g/L
Héparine de sodium	3000 UI/mL
Glucose	55 mmol/L
Acide salicylique	4,34 mmol/L

Réaction croisée

Des échantillons de sérum négatifs et faiblement positifs en IgM et IgG anti dengue, ainsi que des échantillons de sérum faiblement positifs en NS1 Ag ont été mélangés avec les substances potentiellement interférentes suivantes et testées avec le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Substance	Concentration
IgM anti-HAV	Positif
HBsAg	Positif
IgM anti-HCV	Positif
IgG anti- <i>H. pylori</i>	Positif
IgM anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Positif
IgG anti- <i>Treponema pallidum</i>	Positif
Facteurs rhumatoïdes	2500 UI/mL

Aucune réactivité croisée avec les échantillons n'a été observée lors des tests effectués avec le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Précision

Répétabilité

La répétabilité a été déterminée en testant 20 reproductions d'échantillons de sérum négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs aux IgM et aux IgG anti-dengue ainsi que le même nombre d'échantillons de sérum négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs aux NS1 Ag avec 3 lots de tests NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM indépendants. Plus de 99 % des échantillons ont été correctement déterminés (20/20 tests corrects par concentration, intervalle de confiance de 95 % : 95,5 % - 100 %). Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM a indiqué une répétabilité admissible.

Reproductibilité

La reproductibilité a été déterminée en testant 5 reproductions d'échantillons de sérum négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs aux IgM et aux IgG anti-dengue ainsi que le même nombre d'échantillons de sérum

négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs aux NS1 Ag. Les tests ont été réalisés sur 5 jours distincts, par 5 opérateurs, avec 3 lots de tests NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM indépendants, sur 3 sites différents. Plus de 99 % des échantillons ont été correctement déterminés (375/375 tests corrects par concentration, intervalle de confiance de 95 % : 99,8 % - 100 %). Le test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM a indiqué une reproductibilité admissible.

14. Déclaration d'incidents graves

En cas d'incidents graves liés à la performance du test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, veuillez en informer immédiatement nal von minden GmbH et les autorités compétentes. Si possible, ne **pas** jeter le test utilisé et les composants correspondants du kit de test.

15. Bibliographie

- Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6:251-264.
- Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481.
- Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
- Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 1995; 6:39-48.
- Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
- Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr (in German)*, 1997; 147(19-20): 463-4.
- Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol.* 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 EB

1. Uso previsto

El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y la diferenciación de antígenos NS1 del virus del dengue, así como IgG e IgM anti-virus del dengue en muestras de sangre total, suero o plasma humanos (ver sección 12 "Limitaciones"). El test está diseñado para usarse como ayuda en el diagnóstico de infecciones primarias y secundarias por el virus del dengue en pacientes con enfermedad febril de origen desconocido asociada principalmente con regiones tropicales, que muestran síntomas como fiebre repentina con intensos dolores de cabeza y dolor en las extremidades (ver sección 12 "Limitaciones"). El procedimiento de test no está automatizado y no requiere formación ni cualificación especial. El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM está diseñado solo para uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

El virus del dengue es un flavivirus, transmitido por mosquitos tigre *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Está ampliamente distribuido en las áreas tropicales y subtropicales del mundo y causa hasta 100 millones de infecciones al año. La infección clásica por dengue se caracteriza por la aparición repentina de fiebre, dolor de cabeza intenso, mialgia, artralgia y erupción cutánea.

La infección primaria por dengue causa IgM que aumenta hasta un nivel detectable a los 5 días desde la aparición de la fiebre. La IgM generalmente persiste durante 30 a 90 días. La mayoría de los pacientes con dengue en las regiones endémicas tienen infecciones secundarias, lo que resulta en altos niveles de IgG específica antes o simultáneamente a la respuesta de la IgM. Por lo tanto, la detección de IgM e IgG específicas contra el dengue también puede ayudar a distinguir entre infecciones primarias y secundarias.

La NS1 es una de las 7 proteínas no estructurales del virus del dengue, que se cree que participan en la replicación de los virus. La NS1 existe como un monómero en su forma inmadura, pero se procesa rápidamente en el retículo endoplasmático hasta formar un dímero estable. Una pequeña cantidad de NS1 permanece asociada con organelas intracelulares, que se cree que participan en la replicación viral. El resto de NS1 también parece estar asociado a la membrana plasmática o ser secretado como hexámero soluble. La NS1 es esencial para la viabilidad viral pero se desconoce su función biológica precisa. Los anticuerpos producidos en respuesta a la NS1 en la infección viral pueden provocar reacciones cruzadas con antígenos celulares de superficie en células epiteliales y plaquetas. Esto puede tener implicaciones en el desarrollo de la fiebre hemorrágica del dengue.

3. Principio del test

El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección y diferenciación cualitativa de antígenos NS1 del virus del dengue, así como de IgG e IgM anti-virus del dengue en muestras de sangre total, suero o plasma humanos.

El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM contiene dos tiras reactivas internas (lado izquierdo del casete: test de dengue NS1 Ag; lado derecho del casete: test de dengue IgG/IgM).

Los anticuerpos contra la NS del 1virus del dengue se inmovilizan en la región de la línea de test "T" de la membrana. La IgM anti-virus del dengue y la IgG anti-virus del dengue se inmovilizan en las regiones de la línea de test de la membrana marcadas como "IgM" e "IgG" respectivamente.

Durante el test, los antígenos NS1 del virus del dengue, si están presentes en la muestra, se unen a los anticuerpos anti-NS1 del virus del dengue, que están conjugados con partículas coloreadas y recubren previamente la almohadilla de conjugado del casete de test. Si hay IgM o IgG anti-virus del dengue específicas en la muestra, se unen a los antígenos del virus del dengue que están conjugados con partículas coloreadas y recubren la almohadilla de conjugado del casete de test. A continuación, la mezcla migra por capilaridad a lo largo de la membrana e interactúa con los reactivos. Luego, los complejos son capturados por anticuerpos anti-NS1 del virus del dengue, así como IgM contra el virus del dengue e IgG contra el virus del dengue en las regiones de la línea de test "T", así como "IgM" e "IgG" respectivamente. El exceso de partículas coloreadas es capturado en cada región de la línea de control "C". La presencia de una línea coloreada en la región de test "IgM" y/o "IgG" indica un resultado positivo. La ausencia de una línea coloreada en la región de la test "IgM" y/o "IgG" indica un resultado negativo.

La aparición de una línea coloreada en la región de control "C" sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, incl. pipetas desechables (40 µL) para Ag NS1 del dengue
- 10 tubos capilares (10 µL) para IgG/IgM anti-dengue
- 1 búfer (3 mL)*
- 1 manual de instrucciones

*que contiene el siguiente conservante: azida sódica: <0,1%.

No se requiere etiquetado de peligrosidad para la azida sódica según el Reglamento (CE) Nº 1272/2008 CLP. Las concentraciones están por debajo del umbral de exención del 0,1%.

5. Materiales adicionales

- Recipientes de recolección de muestras (apropiados para el material de la muestra que se va a analizar)
- Centrifugadora (solo para muestras de suero o plasma)
- Almohadillas con alcohol
- Lancetas (solo para muestras de sangre completa obtenida por punción digital)
- Cronómetro

6. Almacenamiento y estabilidad

Almacene los kits de test a 2-30°C hasta su fecha de caducidad. Los casetes de test se mantienen estables hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Los casetes de test deben permanecer en los envases de aluminio hasta su uso. No congele los kits de test. No utilice los test después de la fecha de caducidad indicada en el envase. Proteja los componentes del kit de test de cualquier contaminación. No utilice los componentes del kit si hay evidencia de

contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo suministrado, recipientes o reactivos puede producir resultados incorrectos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todas las instrucciones de uso antes de realizar el test.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice los componentes del kit de test si el envase original está dañado.
- Los test son de un solo uso.
- No añada muestras en el área de reacción (región de resultados).
- Para evitar la contaminación, no toque el área de reacción (área de resultados).
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente recolector para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No utilice el búfer si está descolorido o turbio. La decoloración o la turbidez pueden ser un signo de contaminación microbiana.
- No coma, beba o fume en la zona donde se manipulen las muestras y los kits de test.
- Utilice ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos y las directrices estándar para la correcta eliminación de las muestras.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por ello, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM se puede realizar utilizando sangre completa (de punción venosa o digital), suero o plasma.

Para recolectar muestras de sangre completa obtenidas por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua templada o límpiela con una almohadilla con alcohol. Déjela secar.
- Realice un masaje en la mano sin tocar el lugar de la punción, frotándola en dirección a la punta del dedo medio o anular.
- Pinche la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.

- Frote suavemente desde la muñeca hasta la palma de la mano, y después continúe hasta el dedo para producir una gota redonda de sangre en la zona de punción.

Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar el test inmediatamente.

Muestras de sangre entera obtenidas por punción venosa

Deben utilizarse recipientes que contengan anticoagulantes, como el EDTA de sodio, el citrato de sodio o la heparina de sodio, para la preparación de muestras de sangre completa venosa o plasma.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados.

Si el test se va a realizar en los 24 días posteriores a la recolección de las muestras, almacene a 2-8°C la sangre completa obtenida por punción venosa.

No congele las muestras de sangre completa.

Muestras de suero y plasma

Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo muestras claras no hemolizadas.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8°C hasta un máximo de 5 días. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe mantenerlas a -20°C.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar el test. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y bien mezcladas antes de realizar el test. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado de muestras.

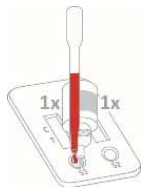
Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones aplicables para el transporte de agentes etiológicos.

Las muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas, tratadas térmicamente y contaminadas pueden dar lugar a resultados inexactos en los test.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, el búfer y/o los controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar el test.

1. Retire el casete de test de su envase de aluminio y utilícelo lo antes posible. Los mejores resultados se obtendrán si el test se realiza inmediatamente después de abrir el envase. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control.
2. Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y nivelada.
3. **a) Ag NS1 del virus del dengue**
 - Sosteniendo una pipeta verticalmente, transfiera 1 gota (aproximadamente 30-45 µL) de la muestra de sangre completa, suero o plasma al pocillo de la muestra (S1) del casete de test.
 - Sosteniendo el bote de búfer verticalmente añada 1 gota (aproximadamente 30-40 µL) del búfer al pocillo de la muestra (S1).



Evite la formación de burbujas de aire en el pocillo de muestras (S1) y no añada ninguna solución en la región de resultados.

b) IgG/IgM anti-virus del dengue

- Sosteniendo el tubo capilar verticalmente, succione la muestra (sangre completa/suero/plasma) hasta la línea de llenado (aproximadamente 10 µL) y agréguela al pocillo de la muestra (S2) del casete de test.

Alternativamente, se puede utilizar una micropipeta (10 µL).

- Sosteniendo el bote del búfer verticalmente añada 2 gotas (aproximadamente 70 µL) del búfer al pocillo de la muestra (S2).

Evite la formación de burbujas de aire en el pocillo de muestras (S2) y no añada ninguna solución en la región de resultados.

4. Active el cronómetro.

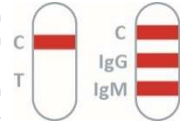
5. Espere a que aparezca la línea/s coloreada/s. Lea los resultados del test a los 15 minutos. Los resultados positivos ya se pueden visualizar después de 1 minuto. No interprete los resultados después de más de 20 minutos.



El resultado del test indica la presencia de IgG anti-dengue, indicando la etapa tardía de una infección primaria, secundaria temprana o previa.

Positivo para IgM e IgG anti-virus del Dengue

Aparece una línea coloreada en cada región de control "C". Se desarrolla una línea coloreada en la región de la línea de test "IgM" y otra en la región de la línea de test "IgG".

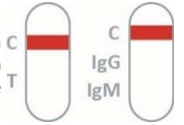


El resultado del test indica la presencia de IgG e IgM anti-virus del dengue, sugiriendo una infección actual primaria o una secundaria temprana por dengue.

Nota: la intensidad del color en las líneas de test "T", "IgM" o "IgG" puede variar según la concentración de antígenos NS1 del virus del dengue o anticuerpos contra el virus del dengue en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de test "IgG" o "IgM" se debe considerar positiva. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito presente en la muestra.

Negativo:

Aparece una línea coloreada en cada región de control "C". No se desarrollan líneas coloreadas en las regiones de test "T", "IgM" o "IgG".



No válido:

No aparece la línea de control (C). Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar.



Si esto sucede, revise el procedimiento y repita el test con un nuevo casete. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

Una línea coloreada que aparece en cada región de la línea de control (C) se considera un control positivo de procedimiento interno. Confirma un volumen de muestra adecuado, una técnica de procedimiento correcta y que la membrana se ha empapado suficientemente.

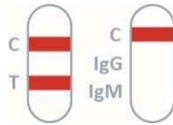
Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control externo para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

10. Interpretación del resultado

Positivo para Ag NS1 del virus del dengue:

Aparece una línea coloreada en cada región de control "C". Se desarrolla otra línea coloreada en la región de la línea de test "T".

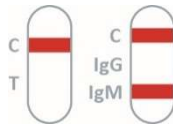
El resultado del test indica la presencia del Ag NS1 del virus del dengue, lo que sugiere una infección primaria aguda temprana o secundaria.



Positivo para IgM anti virus del dengue:

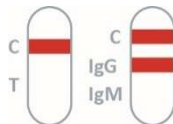
Aparece una línea coloreada en cada región de control "C". Se desarrolla otra línea coloreada en la región de la línea de test "IgM".

El resultado del test indica la presencia de IgM anti-virus del dengue, sugiriendo una infección primaria reciente por dengue.



Positivo para IgG anti virus del dengue:

Aparece una línea coloreada en cada región de control "C". Se desarrolla otra línea coloreada en la región de la línea de test "IgG".



12. Limitaciones

- El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM solo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*. El test debe usarse para la detección cualitativa y diferenciación de antígenos NS1 del virus del dengue, así como de IgG e IgM anti-virus del dengue en muestras de sangre completa, suero o plasma humanos solamente.
- Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento/disminución de la concentración de antígenos NS1 del virus del dengue o anticuerpos contra el virus del dengue pueden determinarse mediante este test cualitativo.
- La precisión del test depende de la calidad de la muestra. Es posible que se produzcan resultados de test inexactos debido a la recolección o el almacenamiento inadecuados de las muestras (consulte el apartado 8, "Recolección y preparación de las muestras").
- Las muestras que contienen cantidades inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoide, pueden afectar a los resultados esperados.
- Como ocurre con todos los test de diagnóstico, todos los resultados deben ser interpretados por un médico junto con otra información clínica disponible.
- El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM solo detecta la presencia de antígenos NS1 del virus del dengue y anticuerpos anti-virus del dengue en las muestras y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico del dengue.
- El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM no se puede utilizar para determinar los serotipos del virus del dengue.
- Es posible una reactividad serológica cruzada con el SARS-CoV-2, así como con todo el grupo de flavivirus (encefalitis de San Luis, virus del Nilo Occidental, encefalitis japonesa y virus de la fiebre amarilla). Los resultados positivos deben confirmarse utilizando otros métodos. Estas reactividades cruzadas deben tenerse en cuenta al tomar decisiones relacionadas con la vacunación.
- No se puede utilizar la presencia o ausencia continuada de anticuerpos para determinar el éxito o fracaso de la terapia.
- Los resultados de pacientes inmunodeprimidos se deben interpretar con cautela.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar test adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de una infección por dengue.
- Puede producirse un resultado negativo del test para antígenos NS1 del virus del dengue si la cantidad de antígenos NS1 del virus del dengue presente en la muestra está por debajo del límite de detección del test o si los antígenos NS1 del virus del dengue detectados no estaban presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recolectó la muestra. Algunos pacientes pueden no producir niveles detectables de anticuerpos IgM en infecciones de dengue tempranas o repetidas.
- La presencia detectable del antígeno NS1 del virus del dengue puede significar un resultado positivo para una infección temprana por dengue.
- Se espera que el antígeno NS1 del virus del dengue sea detectable 1 día después del inicio de la fiebre y pueda

persistir hasta 9 días en infecciones primarias y secundarias por dengue.

13. Características del rendimiento

Rendimiento clínico

Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

Se evaluó el test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM usando muestras clínicas cuyo estado se confirmó usando ELISA para el lado derecho del casete de test (test de IgG/IgM anti dengue) y usando PCR para el lado izquierdo del casete de test (test de Ag NS1 del dengue).

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM)	ELISA Dengue IgM		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	155	5
Negativo	8	169	177
Total	163	174	337

Sensibilidad diagnóstica: 95,09% (90,62% - 97,49%)*

Especificidad diagnóstica: 97,13% (93,45% - 98,77%)*

Concordancia general: 96,14% (93,51% - 97,73%)*

*95% de intervalo de confianza

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG)	ELISA Dengue IgG		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	138	7
Negativo	6	167	173
Total	144	174	318

Sensibilidad diagnóstica: 95,83% (91,21% - 98,08%)*

Especificidad diagnóstica: 95,98% (91,93% - 98,04%)*

Concordancia general: 95,91% (93,13% - 97,60%)*

*95% de intervalo de confianza

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag) vs. PCR

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag)	PCR		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	155	7
Negativo	10	192	202
Total	165	199	364

Sensibilidad diagnóstica: 93,94% (89,20% - 96,68%)*

Especificidad diagnóstica: 96,48% (92,92% - 98,29%)*

Concordancia general: 95,33% (92,65% - 97,06%)*

*95% de intervalo de confianza

Rendimiento analítico

Límite de detección

El límite de detección del test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM es de 50 ng/mL de antígeno recombinante NS1 del virus del dengue.

Substancias interferentes

Las muestras de suero IgM e IgG anti-virus del dengue negativas y débilmente positivas, así como las muestras de suero de Ag NS1 del virus del dengue débilmente positivas enriquecidas con las siguientes sustancias potencialmente interferentes, no mostraron interferencia con el test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Sustancia	Concentración
Albumina	60 g/L
Paracetamol (Acetaminofeno)	0,2 mg/mL
Atropina	0,2 mg/mL
Ácido acetilsalicílico	0,2 mg/mL
Ácido ascórbico	0,2 mg/mL
Bilirrubina	0,2 mg/mL
Creatinina	442 µmol/L
Citrato sódico	3,80 %
Cafeína	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Hemoglobina	2 g/L
Heparina sódica	3000 UI/mL
Glucosa	55 mmol/L
Ácido salicílico	4,34 mmol/L

Reacciones cruzadas

Las muestras de suero de IgM e IgG anti-virus del Dengue negativas y débilmente positivas, así como las muestras de suero Ag NS1 del virus del dengue débilmente positivas enriquecidas con las siguientes sustancias potencialmente interferentes, no mostraron interferencia con el test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Sustancia	Concentración
IgM anti-HAV	Positivo
HBsAg	Positivo
IgM anti-HCV	Positivo
IgG anti- <i>H. pylori</i>	Positivo
IgM anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Positivo
IgG anti- <i>Treponema pallidum</i>	Positivo
Factores reumatoides (FR)	2500 UI/mL

No se observaron reacciones cruzadas con las muestras cuando se analizaron con el test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Precisión

Repetibilidad

Se estableció la repetibilidad analizando 20 réplicas de muestras de suero de IgM e IgG anti-virus del dengue negativas, débilmente positivas, medianamente positivas y altamente positivas respectivamente, así como la misma cantidad de muestras de suero Ag NS1 negativas, débilmente positivas, medianamente positivas y altamente positivas del virus del dengue usando 3 lotes de los test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM. Se identificaron correctamente >99% de las muestras (20/20 test correctos por concentración, intervalo de confianza del 95%: 95,5% - 100%). El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM demostró una repetibilidad aceptable.

Reproducibilidad

Se estableció la reproducibilidad analizando 5 réplicas de muestras de suero de IgM e IgG anti-virus del dengue negativas, débilmente positivas, medianamente positivas y altamente positivas respectivamente, así como la misma cantidad de muestras de suero Ag NS1 negativas, débilmente positivas, medianamente positivas y altamente positivas para el virus del dengue. El test fue realizado por 5 operadores usando 3 lotes del test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM independientes en 3 sitios en 5 días separados. >99 % de las muestras se identificaron correctamente (375/375 test correctos por concentración, intervalo de confianza del 95 %:

99,8 % - 100 %). El test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM demostró una reproducibilidad aceptable.

14. Informe de incidente grave

En caso de cualquier incidente grave relacionado con el rendimiento del test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, informe inmediatamente a nal von minden GmbH y a la autoridad competente. Si todavía es posible, **no** elimine el test usado y los componentes del kit de test correspondientes.

15. Referencias

- Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. *Rev. Infect. Dis.* 1984; 6:251-264.
- Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239:476-481.
- Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
- Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 1995; 6:39-48.
- Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
- Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr (in German).* 1997; 147(19-20): 463-4.
- Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol.* 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 MP

1. Uso previsto

Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per l'individuazione qualitativa degli antigeni NS1 del virus della dengue e degli IgG ed IgM anti-dengue in campioni di sangue intero, siero oppure plasma umani (vedere sezione 12 "Limiti del Test"). Questo test è concepito come supporto nella diagnosi di infezioni primarie e secondarie trasmesse dal virus della dengue in pazienti con malattia febbrile di origine sconosciuta associata principalmente a regioni tropicali, che presentano sintomi quali febbre improvvisa con intenso mal di testa e dolori articolari (vedere sezione 12 "Limiti del Test"). La procedura del test non è automatizzata e non richiede una formazione o una qualifica speciali. Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM è concepito esclusivamente per uso professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

Il virus della dengue è un flavivirus, trasmesso dalle zanzare tigre *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. È ampiamente distribuito nelle aree tropicali e subtropicali del mondo e causa fino a 100 milioni di infezioni ogni anno. L'infezione classica da dengue è caratterizzata da un inizio improvviso di febbre, mal di testa intenso, mialgia, artralgia ed eruzione cutanea.

L'infezione primaria da dengue causa l'aumento delle IgM ad un livello rilevabile circa 5 giorni dopo l'inizio della febbre. Le IgM generalmente persistono per 30-90 giorni. La maggior parte dei pazienti affetti da dengue nelle regioni endemiche hanno infezioni secondarie, con conseguenti alti livelli di IgG specifiche prima o contemporaneamente alla risposta IgM. Pertanto, il rilevamento di IgM e IgG specifiche anti-dengue può anche aiutare a distinguere tra infezioni primarie e secondarie.

L'NS1 è una delle 7 proteine non strutturali del virus della dengue che si pensa siano coinvolte nella replicazione virale. L'NS1 esiste come monomero nella sua forma immatura ma viene rapidamente elaborato nel reticolo endoplasmatico per formare un dimer stabile. Una piccola quantità di NS1 rimane associata agli organelli intracellulari dove si pensa sia coinvolta nella ripetizione virale. Il resto di NS1 si trova associato alla membrana plasmatica o secreto come esadimero solubile. L'NS1 è essenziale per la vitalità virale ma la sua precisa funzione biologica è sconosciuta. Gli anticorpi prodotti in risposta all'NS1 nelle infezioni virali possono reagire in modo incrociato con gli antigeni di superficie delle cellule epiteliali e delle piastrine. Questo può avere implicazioni nello sviluppo della febbre emorragica da dengue.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per la rilevazione qualitativa e la differenziazione degli antigeni NS1 del virus della dengue e delle IgG e IgM anti virus della dengue in campioni di sangue intero, siero o plasma umani.

Il Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM contiene due strisce interne del test (lato sinistro del test a cassetta: Test Dengue NS1 Ag; lato destro del test a cassetta: Test Dengue IgG/IgM).

Gli anticorpi NS1 anti virus della dengue sono immobilizzati nella regione "T" della membrana. Le IgM anti-virus dengue e

le IgG anti-virus dengue sono immobilizzate nelle rispettive regioni della linea del test "IgM" e "IgG", della membrana.

Durante il test, gli antigeni NS1 del virus della dengue, se presenti nel campione, si legano agli anticorpi NS1 anti virus della dengue, che sono coniugati a particelle colorate e prelevati sul tampone del test a cassetta. Se nel campione sono presenti IgM o IgG specifiche anti virus della dengue, queste si legano agli antigeni del virus della dengue coniugati a particelle colorate e prelevati sul tampone del test a cassetta. Il composto migra poi lungo la membrana per azione capillare e va ad interagire con i reagenti presenti sulla membrana. I complessi vengono poi catturati dagli anticorpi NS1 anti virus della dengue così come le IgM e IgG anti-dengue rispettivamente nella regione della linea del test "T", "IgM" e "IgG". Le particelle colorate in eccesso sono catturate nella regione della linea di controllo "C". La presenza di una linea colorata nella regione della linea del test "T" e/o "IgM" e/o "IgG" indica un risultato positivo. L'assenza di una linea colorata nella regione della linea del test "T" e/o "IgM" e/o "IgG" indica un risultato negativo.

La formazione di una linea colorata nella regione della linea di controllo "C" serve da controllo procedurale indicando che è stato aggiunto il giusto volume di campione e che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 10 test a cassetta NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, incl. pipette monouso (40 µL) per dengue Ag NS1
- 10 tubi capillari (10 µL) per dengue IgG/IgM
- 1 soluzione tampone (Buffer) (3 mL)*
- 1 istruzioni per l'uso

*contenenti il conservante azoturo di sodio: <0,1%

Non è richiesta un'etichettatura per materiali pericolosi secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 CLP. Le concentrazioni sono al di sotto della soglia di esenzione.

5. Altri materiali richiesti

- Contenitore di raccolta del campione (appropriato per il materiale campione da testare)
- Centrifuga (solo per i campioni di siero oppure plasma)
- Dischetti imbevuti di alcol
- Lancette (solo per il prelievo di sangue intero mediante puntura del polpastrello)
- Timer

6. Conservazione e Stabilità

I kit di test devono essere conservati a 2-30°C fino alla data di scadenza indicata. I test a cassetta rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test a cassetta vanno conservati nella loro confezione sigillata fino al loro utilizzo. Non congelare i kit di test. Non utilizzare i test oltre la data di scadenza indicata sulla confezione. Si raccomanda di fare attenzione a proteggere i componenti dei kit di test dalla contaminazione. Non utilizzare i componenti dei kit di test in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all'ottenimento di risultati inaccurati.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.

- Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di eseguire il test.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare i componenti del kit di test se l'imballaggio primario è danneggiato.
- Test esclusivamente monouso.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Al fine di evitare la contaminazione non toccare l'area di risultato (result area).
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata utilizzando sempre un nuovo test per ogni campione ottenuto.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non utilizzare la soluzione tampone (buffer) se questa risulta scolorita o torbida. Lo scolorimento o la torbidità possono essere un segno di contaminazione microbica.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit di test fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- La temperatura può influire negativamente sui risultati dei test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM può essere eseguito su campioni di sangue intero (ottenuti tramite prelievo venoso o puntura del polpastrello), siero o plasma.

Prelievo del campione di sangue intero tramite puntura del polpastrello:

- Lavare la mano del paziente con sapone ed acqua calda o pulire con alcol la zona da incidere. Fare asciugare.
- Massaggiare la mano del paziente senza toccare la zona del prelievo sfregando la mano verso il basso in direzione del dito medio o dell'anulare.
- Incidere la punta del dito utilizzando un bisturi sterile. Asciugare la prima goccia di sangue.
- Sfregare leggermente la mano del paziente dal polso al palmo fino al dito inciso affinché si formi una nuova goccia di sangue.

I campioni raccolti tramite puntura del polpastrello andrebbero testati immediatamente.

Campioni di sangue intero, prelievo venoso

I contenitori con anticoagulanti, come sodio EDTA, citrato di sodio o eparina di sodio devono essere utilizzati per la preparazione di campioni di sangue intero venoso o di plasma.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo.

Se il test viene eseguito entro 3 giorni dalla raccolta del campione, il sangue intero raccolto tramite prelievo venoso va conservato a 2-8°C.

Non congelare i campioni di sangue intero.

Campioni di siero e plasma

Separare siero e plasma immediatamente al fine di evitare emolisi. Utilizzare solo campioni chiari non emolizzati.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo. Campioni di siero e plasma possono essere conservati tra 2-8°C per un massimo di 5 giorni. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.

Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test. Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

Nel caso in cui si intenda spedire i campioni, questi andrebbero imballati seguendo le regolamentazioni locali in materia di trasporto di agenti eziologici.

I campioni itterici, lipemici, emolizzati, trattati termicamente e contaminati possono portare a risultati inaccurati del test.

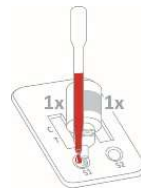
9. Procedura del Test

Portare i test, i campioni, soluzioni (buffer) e/o controlli a temperatura ambiente (15-30°) prima di eseguire il test.

1. Rimuovere la cassetta dalla busta di alluminio e usarla il prima possibile. Si otterranno i risultati migliori se il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura della confezione. Etichettare il test a cassetta con l'identificativo del paziente o controllo.
2. Posizionare il test a cassetta su una superficie piana e pulita.
3. a) **Virus Dengue Ag NS1:**

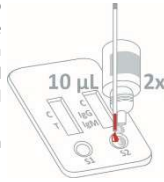
- Tenendo la pipetta in verticale, trasferire 1 goccia del campione di sangue intero, siero o plasma (circa 30-45 µL) nel pozzetto di raccolta del campione (S1) del test a cassetta.
- Mantenendo in verticale il flacone di soluzione (buffer), aggiungere 1 goccia (circa 30-40 µL) di soluzione (buffer) al pozzetto di raccolta del campione (S1).

Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta del campione (S1) e non aggiungere alcuna soluzione all'area di risultato.



b) IgG/IgM anti virus dengue

- Mantenendo verticalmente il tubo capillare aspirare il campione (sangue intero/ siero/ plasma) fino alla prima linea di riempimento (circa 10 µL) ed aggiungerlo nel pozzetto di raccolta del campione (S2) del test a cassetta.



In alternativa è possibile utilizzare una micropipetta (10 µL).

- Mantenendo in verticale il flacone di soluzione (buffer), aggiungere 2 gocce (circa 70 µL) di soluzione (buffer) al pozzetto di raccolta del campione (S2). **Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta del campione (S2) e non aggiungere alcuna soluzione all'area di risultato.**

4. Avviare il timer.

5. Attendere la comparsa delle linee colorate. Leggere il risultato del test entro 15 minuti. I risultati positivi possono essere visibili già dopo 1 minuto. Non interpretare il risultato dopo più di 20 minuti.

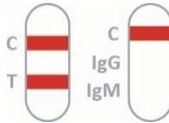


10. Interpretazione dei risultati

Positivo agli Ag NS1 del virus della dengue:

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo "C" e una linea colorata nella regione della linea del test "T".

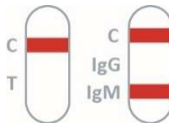
Il risultato del test indica la presenza di Ag NS1 del virus della dengue, suggerendo un'infezione primaria o secondaria precoce e acuta.



Positivo a IgM anti virus della dengue:

Una linea colorata si sviluppa in ogni regione della linea di controllo "C". Un'altra linea colorata si sviluppa nella regione della linea di test "IgM".

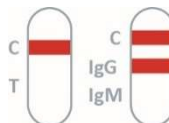
Il risultato del test indica la presenza di IgM anti virus dengue, suggerendo una nuova infezione primaria da virus dengue.



Positivo a IgG anti virus della dengue:

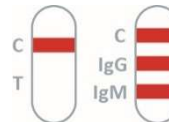
Una linea colorata si sviluppa in ogni regione della linea di controllo "C". Un'altra linea colorata si sviluppa nella regione della linea di test "IgG".

Il risultato del test indica la presenza di IgG anti virus della dengue, suggerendo la fase tardiva di un'infezione primaria, secondaria precoce o precedente.



Positivo a IgG e IgM anti virus della dengue:

Una linea colorata si sviluppa in ogni regione della linea di controllo "C". Una linea colorata si sviluppa nella regione



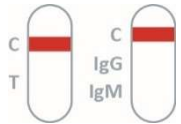
della linea di controllo "IgM" e un'altra nella regione della linea di controllo "IgG".

Il risultato del test indica la presenza di IgM e IgG anti virus dengue, suggerendo un'infezione primaria o secondaria in corso.

Nota Bene: L'intensità del colore nelle regioni della linea del test "T", "IgM" o "IgG" può variare a seconda della concentrazione di antigeni NS1 del virus della dengue o di anticorpi anti virus della dengue nel campione. Pertanto, qualsiasi tonalità di colore nella regione "T", "IgG" o "IgM" della linea del test deve essere considerata positiva. Si noti che questo test è solo qualitativo e non può determinare la concentrazione dell'analita nel campione.

Negativo:

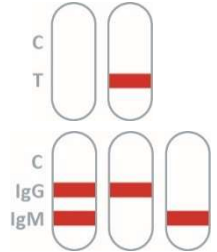
In ogni regione della linea di controllo "C" si sviluppa una linea colorata. Non si sviluppano linee colorate nelle regioni della linea di test "T", "IgM" o "IgG".



Non valido:

La linea di controllo "C" non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto una linea di controllo al momento di lettura specificato devono essere scartati.

Rivedere la procedura e ripetere il test con una nuova cassetta. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'uso del kit e contattare il distributore.



Un volume di campione insufficiente, una procedura operativa errata o test scaduti sono le ragioni più probabili del fallimento della linea di controllo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

Una linea colorata che compare in ogni regione della linea di controllo "C" è considerata un controllo procedurale interno positivo. Ciò conferma che è stato aggiunto il giusto volume di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente e che sono state applicate le corrette tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio (GLP)* raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM è concepito esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*. Andrebbe utilizzato per l'individuazione qualitativa degli antigeni NS1 del virus della dengue così come gli IgG e IgM anti virus della dengue in sangue intero, siero oppure plasma.
- Con questo test qualitativo, non è possibile determinare né il valore quantitativo né la velocità di aumento della

concentrazione degli antigeni NS1 del virus della dengue o degli anticorpi del virus anti dengue.

- L'accuratezza del test dipende dalla qualità del campione. I risultati del test possono essere imprecisi a causa di una raccolta o conservazione non corretta dei campioni (vedere la sezione 8 "Raccolta e preparazione dei campioni").
- Alcuni campioni contenenti titoli insolitamente elevati di anticorpi eterofili o di fattore reumatoide possono influenzare i risultati del test.
- Come per tutti i test diagnostici, tutti i risultati devono essere interpretati da un medico insieme alle altre informazioni cliniche disponibili.
- Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM rileva solo la presenza di antigeni NS1 del virus della dengue e di anticorpi contro il virus della dengue nei campioni e non deve essere utilizzato come unico criterio per una diagnosi di infezione da dengue.
- Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM non può essere utilizzato per determinare i sierotipi del virus dengue.
- È possibile una cross-reattività sierologica con il SARS-CoV-2 così come in tutto il gruppo dei flavivirus (encefalite di St. Louis, virus del Nilo occidentale, encefalite giapponese e virus della febbre gialla). I risultati positivi devono essere confermati con altri metodi. Queste cross-reattività devono essere prese in considerazione quando si prendono decisioni relative alle vaccinazioni.
- La presenza o l'assenza continua di anticorpi non può essere utilizzata per determinare il successo o il fallimento della terapia.
- I risultati dei pazienti immunosoppressi devono essere interpretati con cautela.
- Se il risultato del test è negativo e i sintomi clinici persistono, si raccomanda di eseguire ulteriori test con altri metodi clinici, come la PCR o l'ELISA. Un risultato negativo non preclude mai la possibilità di una recente infezione da dengue.
- Un risultato negativo del test per gli antigeni NS1 del virus della dengue può verificarsi se la quantità di antigeni NS1 del virus della dengue presenti nel campione è inferiore al limite di rilevamento del test o se gli antigeni NS1 del virus della dengue rilevati non erano presenti durante la fase della malattia in cui è stato raccolto il campione. Alcuni pazienti possono non produrre livelli rilevabili di anticorpi IgM nelle infezioni da dengue precoci o ripetute.
- La presenza di Ag NS1 del virus della dengue rilevabile può significare un risultato positivo per un'infezione precoce da dengue.
- L'antigene NS1 del virus della dengue dovrebbe essere rilevabile 1 giorno dopo l'inizio della febbre e può persistere fino a 9 giorni sia nelle infezioni primarie che in quelle secondarie.

IgG/IgM) e mediante PCR per il lato sinistro della cassetta (test Dengue NS1 Ag).

I risultati sono riassunti rispettivamente nelle seguenti tabelle:

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM)	Dengue IgM ELISA			
		Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	155	5	160
Negativo	8	169	177	
Totale	163	174	337	

Sensibilità diagnostica: 95,09% (90,62% - 97,49%)*

Specificità diagnostica: 97,13% (93,45% - 98,77%)*

Andamento complessivo: 96,14% (93,51% - 97,73%)*

*95% Accuratezza

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG)	Dengue IgG ELISA			
		Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	138	7	145
Negativo	6	167	173	
Totale	144	174	318	

Sensibilità diagnostica: 93,94% (89,20% - 96,68%)*

Specificità diagnostica: 96,48% (92,92% - 98,29%)*

Andamento complessivo: 95,33% (92,65% - 97,06%)*

*95% Accuratezza

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag) vs. PCR

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag)	PCR			
		Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	155	7	162
Negativo	10	192	202	
Totale	165	199	364	

Sensibilità diagnostica: 93,94% (89,20% - 96,68%)*

Specificità diagnostica: 96,48% (92,92% - 98,29%)*

Andamento complessivo: 95,33% (92,65% - 97,06%)*

*95% Accuratezza

Prestazioni analitiche

Limite di rilevazione

Il limite di rilevazione del test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM è di 50 ng/mL di antigene NS1 ricombinante del virus della dengue.

Sostanze interferenti

I campioni di siero IgM e IgG anti virus della dengue negativi e leggermente positivi, così come i campioni di siero NS1 Ag del virus della dengue leggermente positivi, addizionati con le seguenti sostanze potenzialmente interferenti, non hanno mostrato alcuna interferenza con il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Sostanza	Concentrazione
Albumina	60 g/L
Paracetamolo (Acetaminofene)	0,2 mg/mL
Atropina	0,2 mg/mL
Acido acetilsalicilico	0,2 mg/mL
Acido ascorbico	0,2 mg/mL
Bilirubina	0,2 mg/mL
Creatinina	442 µmol/L
Citrato di sodio	3,80 %

13. Caratteristiche Tecniche

Performance clinica

Sensibilità e Specificità diagnostica:

Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM è stato valutato utilizzando campioni clinici il cui stato è stato confermato mediante ELISA per il lato destro della cassetta (test Dengue

Sostanza	Concentrazione
Caffeina	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Emoglobina	2 g/L
Sodio eparina	3000 IU/mL
Glucosio	55 mmol/L
Acido salicilico	4,34 mmol/L

Reattività incrociata

I campioni di siero IgM e IgG negativi e leggermente positivi per il virus della dengue, nonché i campioni di siero NS1 Ag leggermente positivi per il virus della dengue, sono stati addizionati con le seguenti sostanze potenzialmente cross-reagenti e analizzati con il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Sostanza	Concentrazione
IgM anti-HAV	Positivo
HBSAg	Positivo
IgM anti-HCV	Positivo
IgG anti- <i>H. pylori</i>	Positivo
IgM anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Positivo
IgG anti- <i>Treponema pallidum</i>	Positivo
Fattori Reumatoidi (RF)	2500 IU/mL

Precisione

Ripetibilità

La ripetibilità è stata stabilita analizzando 20 repliche di campioni di siero IgM e IgG anti virus della dengue negativi, bassi, medi e altamente positivi, rispettivamente, e lo stesso numero di campioni di siero NS1 Ag del virus della dengue negativi, bassi, medi e altamente positivi, utilizzando 3 lotti del test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM. Oltre il 99% dei campioni è stato identificato correttamente (20/20 test corretti per concentrazione, accuratezza del 95%: 95,5% - 100%). Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM ha dimostrato una ripetibilità accettabile.

Riproducibilità

La riproducibilità è stata stabilita analizzando 5 repliche di campioni di siero IgM e IgG anti virus della dengue negativi, bassi, medi e altamente positivi, rispettivamente, e lo stesso numero di campioni di siero NS1 Ag del virus della dengue negativi, bassi, medi e altamente positivi. I test sono stati eseguiti da 5 operatori utilizzando 3 lotti di test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM indipendenti in 3 siti in 5 giorni diversi. Oltre il 99% dei campioni è stato identificato correttamente (375/375 test corretti per concentrazione, accuratezza del 95%: 99,8% - 100%). Il test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM ha dimostrato una riproducibilità accettabile.

14. Rapporto di un incidente grave

In caso di incidenti gravi relativi alle prestazioni del test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, si prega di informare immediatamente nal von minden GmbH e le autorità competenti. Se possibile, **non** smaltire il test usato e i relativi componenti del kit.

15. Bibliografia

1. Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6:251-264.

2. Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481.
3. Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
4. Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 1995; 6:39-48.
5. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
6. Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jul; 10(4): 725-8.
7. Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr (in German).* 1997; 147(19-20): 463-4.
8. Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol.* 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 BN

1. Zastosowanie

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM to chromatograficzny test immunologiczny w formie przepływu bocznego służący do jakościowego wykrywania antygenów NS12 Dengue, a także IgG i IgM przeciw wirusowi dengi w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza (Patrz punkt 12. „Ograniczenia testu”). Test ma na celu pomoc w diagnozowaniu pierwotnych i wtórnych zakażeń wirusem dengi u pacjentów z chorobami przebiegającymi z gorączką niewiadomego pochodzenia, które występują głównie w regionach tropikalnych i wykazują objawy, takie jak nagła gorączka z silnym bólem głowy i bólami ciała. Test nie jest zautomatyzowany i nie wymaga specjalnego szkolenia ani kwalifikacji. Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Denga jest flawiwirusem, przenoszonym przez komary tygrysie *Aedes aegypti* i *Aedes albopictus*. Jest szeroko rozpowszechniony w tropikalnych i subtropikalnych obszarach świata i powoduje do 100 milionów zakażeń rocznie. Klasyczne infekcje denga charakteryzują się nagłym pojawieniem się gorączki, silnym bólem głowy, bólami mięśni, bólami stawów i wysypką.

Pierwotne zakażenia dengą powodują wzrost IgM do wykrywalnego poziomu około 5 dni po wystąpieniu gorączki. IgM zwykle utrzymuje się przez 30 do 90 dni. Większość pacjentów z dengą z obszarów endemicznych ma wtórne zakażenia, które mogą prowadzić do wysokich stężeń swoistych IgG przed lub w tym samym czasie z reakcją IgM. Stąd wykrywanie swoistych przeciwciał dengi IgM i - IgG również przyczynia się do rozróżniania między pierwotną, a wtórnymi infekcjami.

NS1 jest jedną z siedmiu niestrukturalnych protein Dengue, które wszystkie biorą udział przy wirusowych replikacjach. NS1 istnieje jako monomer w swojej niedojrzalej formie, który jest przetwarzany w retikulum endoplazmatycznym do utworzenia stabilnego dimeru. Niewielka ilość NS1 związana jest z wewnątrzkomórkowymi organellami, gdzie bierze udział przy wirusowej replikacji. Reszta proteiny NS1 wiąże się z membraną plazmową lub wydziela się w postaci rozpuszczalnego heksadimeru. NS1 jest niezbędna dla wirusowej żywotności, jednak jego dokładna funkcja biologiczna nie jest znana. Przeciwciała, które zostają utworzone jako reakcja na NS1 przy infekcjach wirusowych, mogą wchodzić w reakcje krzyżowe z antygenami na powierzchni komórek nabłonkowych i płytek krwi. Może to mieć wpływ na rozwój gorączki krwotocznej dengi.

3. Zasada działania testu

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM to chromatograficzny test immunologiczny w formie przepływu bocznego służący do jakościowego wykrywania antygenów NS1 Dengue, a także IgG i IgM przeciw wirusowi dengi w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza.

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM zawiera dwa wewnętrzne paski testowe (lewa strona kasety testowej: Dengue NS1 Ag Test, prawa strona kasety testowej: Dengue IgG/IgM Test).

Przeciwciała anty-Dengue-Virus-NS-1 są immobilizowane w obszarze linii testowej „T” membrany. IgM przeciw wirusowi dengi i IgG przeciw wirusowi dengi są unieruchomione w odpowiednich obszarach linii testowych „IgM” i „IgG” błony.

Podczas badania antygeny Dengue NS1, jeśli są obecne w próbce, wiążą się z przeciwciałami IgM przeciw wirusowi dengi NS1 sprzężonymi z kolorowymi cząsteczkami i wstępnie opłaszczonymi koniugatem kasety testowej. Jeśli w próbce obecne są specyficzne przeciwciała IgM przeciwko wirusowi dengi lub IgG przeciwko wirusowi dengi, zwiążą się one z antygenami Dengue sprzężonymi z kolorowymi cząsteczkami i wstępnie pokrytą podkładką z koniugatem kasety testowej. Mieszanka wdręje następnie przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany i zachodzi w interakcję z odczynnikami znajdującymi się na membranie. Kompleksy są następnie przechwytywane przez przeciwciała przeciwko wirusowi dengi -NS1, jak również IgM przeciwko wirusowi dengi i IgG przeciwko wirusowi dengi w obszarach linii testowej „T” oraz „IgM” i „IgG”. Nadmiar cząsteczek zostaje wypłany w obszarze linii kontrolnej (C). Obecność kolorowej linii w obszarze linii testowej „T” i / lub „IgM” i / lub „IgG” wskazuje na wynik pozytywny. Brak kolorowej linii w obszarze linii testowej „T” i / lub „IgM” i / lub „IgG” wskazuje na wynik ujemny.

Pojawienie się kolorowej linii w każdym z kontrolnych obszarów „C” służy jako kontrola proceduralna i wskazuje, że dodano wystarczającą objętość próbki i że membrana jest wystarczająco zwilżona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM wraz z pipetami jednorazowymi (40 µL) do Dengue NS1 Ag
- 10 kapilar (10 µL) do Dengue IgG/IgM
- 1 bufor „Buffer” (3 mL)*
- 1 instrukcja obsługi

*zawiera następujący konserwant: azydek sodu: <0,1%.

Zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr. 1272/2008 CLP, nie jest wymagane oznakowanie zagrożenia dla azdyku sodu. Stężenia są poniżej limitu wyłączenia wynoszącego <0,1%.

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemnik do pobierania próbek (odpowiedni do badanego materiału próbki)
- Centryfuga (tylko dla próbek surowicy i osocza)
- Płytki alkoholowe
- Nakłuwacze (tylko dla próbek z krwi pełnej z nakłucia palca)
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe powinny być przechowywane w temperaturze 2-30°C, do daty podanej na opakowaniu. Testy kasetowe są stabilne do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Kaseta testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać zestawów testowych. Nie stosować kontroli pozytywnej po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu. Test i komponenty testu należy chronić przed kontaminacją. Testu nie należy używać przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne

zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub probówek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie należy używać żadnych części zestawu testowego, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Testy są przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Nie dodawać próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej probówki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie używać bufora, jeśli pojawiła się zmiana koloru lub zmętnienie. Przebarwienia lub zmętnienie mogą być oznaką zanieczyszczenia mikrobiologicznego.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Zestaw testowy zawiera wyroby pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności, np. **uniknąć połknięcia lub wdychania**.
- Temperatury mogą wpływać na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutilizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM można wykonać z pełnej krwi (pobranej z żyły lub nakłucia palca), surowicy lub osocza.

Pobieranie krwi pełnej z nakłucia palca

- Umyć dłoń pacjenta przy pomocy mydła i ciepłej wody, a następnie przemyć wacikiem nasączonym alkoholem. Pozostawić do osuszenia.
- Masować dłoń, nie dotykając przy tym miejsca nakłucia, w taki sposób, aby pocierać dłoń w kierunku opuszka palca środkowego lub serdecznego.
- Nakłuć skórę przy pomocy sterylnego nakłuwacza. Wytrzeć pierwszą kroplę krwi.
- Pocierać ostrożnie dłoń od nadgarstka do powierzchni dłoni i do palca, tak aby w punkcie nakłucia wytworzyła się okrągła kropla.

Próbki krwi pełnej z palca powinny być przebadane bezpośrednio.

Próbki krwi pełnej z nakłucia żyły.

Do przygotowania próbek pełnej krwi żyłnej lub osocza należy używać pojemników do pobierania próbek zawierających antykoagulanty, takie jak EDTA, cytrynian sodu lub heparyna sodowa.

Przeprowadzenie testu powinno nastąpić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy okres czasu.

Krew żylną należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, jeśli badanie jest wykonywane w ciągu 24 godzin od pobrania próbki.

Nie zamrażać próbek z krwi pełnej.

Próbki surowicy i osocza

Jak najszybciej rozdzielić surowicę lub osocze z krwi, w celu uniknięcia hemolizy. Używać wyłącznie przejrzystych i niehemolitycznych próbek.

Przeprowadzenie testu powinno nastąpić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy okres czasu. Probki surowicy/osocza mogą być przechowywane przy temperaturze 2-8°C do 5 dni. W przypadku dłuższego przechowywania próbki należy przechowywać w temperaturze -20°C.

Doprowadzić próbki do temperatury pokojowej przed badaniem. Zamrożone próbki powinny zostać całkowicie rozmrożone i dobrze wymieszane, przed rozpoczęciem testu. Probki nie mogą być ponownie zamrażane i rozmrażane.

Jeśli próbki mają zostać wysłane, to powinny być pakowane zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi transportu patogenów etiologicznych.

Ikteryczne, lipemiczne, hemolityczne, obrabiane ciepłem i zanieczyszczone próbki, mogą prowadzić do fałszywych wyników testu.

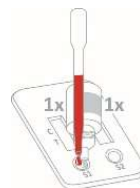
9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem testu, doprowadzić wszystkie testy, próbki i/albo kontrole do temperatury pokojowej (15-30°C).

1. Wyciągnąć kasętę testową z opakowania foliowego i użyć ją tak szybko, jak to możliwe. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu. Oznaczyć kasętę testową z danymi pacjenta oraz identyfikacją kontrolną.
2. Kasętę testową położyć na czystą i równą powierzchnię.
3. a) **Wirus dengi NS1 Ag**

- Trzymając pipetę pionowo, dodać 1 kroplę (około 30-45 µL) próbki pełnej krwi, surowicy lub osocza do zagłębienia na próbkę (S1) na kasecie testowej.
- Trzymając fiolkę z buforem pionowo, dodać 1 kroplę (ok. 30-40 µL) bufora do zagłębienia na próbkę (S1) na kasecie testowej.

Należy unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu na próbkę (S1) i nie dodawać roztworu na pole wyników.



b) IgG/IgM przeciwko wirusowi dengi

- Trzymając kapilarę pionowo, użyć jej do zaaspirowania próbki (krew pełna/surowica/osocze) do linii napętnienia (ok. 10 µL) i nakropić ją do zagłębienia na próbkę (S2) na kasiecie testowej.

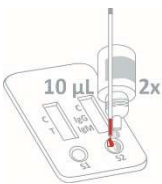
Alternatywnie można zastosować mikropipetę (10 µL).

- Trzymając fiolkę z buforem pionowo, dodać 2 krople (około 70 µL) buforu do zagłębienia na próbkę (S2) na kasiecie testowej.

Należy unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu na próbkę (S2) i nie dodawać roztworu na pole wyników.

- Włączyć stoper.

- Początek na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik należy interpretować po upływie 15 minut. Wyniki pozytywne mogą zostać widoczne już po 1 minucie. Po upływie więcej jak 20 minut nie interpretować wyniku.

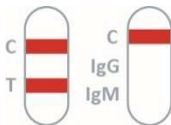


10. Interpretacja wyników

Pozytywny dla Dengue NS1 Ag:

Pojawia się każdorazowo kolorowa linia w obszarach linii kontrolnej "C". Kolejna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej „T”.

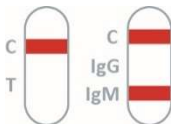
Wynik badania wskazuje na obecność Dengue NS1-Ag i wskazuje na wczesną, ostrą infekcję pierwotną lub wtórną.



Pozytywny dla anti-Dengue IgM:

Pojawia się każdorazowo kolorowa linia w obszarach linii kontrolnej "C". Kolejna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej „IgM”.

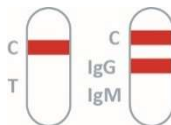
Wynik testu wskazuje na obecność przeciwciał IgM przeciwko wirusowi dengi i wskazuje na niedawną pierwotną infekcję wirusem dengi.



Pozytywny dla anti-Dengue IgG:

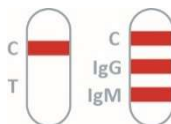
Pojawia się każdorazowo kolorowa linia w obszarach linii kontrolnej "C". Kolejna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej „IgG”.

Wynik testu wskazuje na obecność przeciwciał IgG przeciwko wirusowi dengi i sugeruje późne stadium pierwotnej infekcji, wczesne wtórne zakażenie lub wcześniejsze zakażenie.



Pozytywny dla anti-Dengue IgG i IgM:

Pojawia się każdorazowo kolorowa linia w obszarach linii kontrolnej "C". Kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej IgM, a druga w obszarze linii testowej IgG.



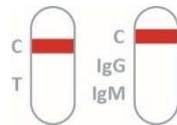
Wynik testu wskazuje na obecność przeciwciał IgG i IgM przeciwko wirusowi dengi i wskazuje na obecne zakażenie pierwotne lub wczesne wirusy dengi zakażenie wtórne.

Wskazówka:

Intensywność koloru w obszarze linii testowej „T”, „IgG” lub „IgM” może się różnić w zależności od stężenia antygenów NS1 Dengue lub przeciwciał przeciwko wirusowi dengi w próbce. Dlatego każdy odcień w obszarze linii testowej „T”, „IgG” lub „IgM” należy uznać za wynik pozytywny. Należy mieć na uwadze, że jest to test jakościowy i nie można nim określać stężenia antygenów w próbce.

Negatywny:

Pojawia się każdorazowo kolorowa linia w obszarach linii kontrolnej "C". W obszarach linii testowych „T”, „IgM” lub „IgG” nie pojawiają się żadne kolorowe linie.



Nieważny:

Linia kontrolna (C) nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone.

Sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.



Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę procesową:

każda kolorowa linia pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) jest uważana za wewnętrzną kontrolę proceduralną. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczenia poprawnej wydajności zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro* i powinien być używany wyłącznie do jakościowego wykrywania i różnicowania antygenów Dengue NS1 i przeciwciał - IgG i IgM Dengue w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocze.
- Za pomocą tego testu jakościowego nie można określić wartości ilościowej ani szybkości wzrostu/spadku stężenia antygenów Dengue NS1 lub przeciwciał przeciwko wirusowi dengi.
- Dokładność testu zależy od jakości próbki. Nieprawidłowe wyniki mogą wynikać z niewłaściwego

pobierania lub przechowywania próbek (patrz punkt 8. „Pobieranie, przygotowanie i przechowywanie próbek”).

- Niektóre próbki o niezwykle wysokich mianach przeciwciał heterofilnych lub czynników reumatoidalnych mogą zakłócać wyniki testu.
- Jak przy wszystkich testach diagnostycznych, wszystkie wyniki muszą być interpretowane, w połączeniu w kolejnymi klinicznymi informacjami, które udostępnione są lekarzowi.
- Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM wykazuje jedynie obecność antygenów Dengue-NS1 oraz przeciwciał anty Dengue w próbce i nie powinien być wykorzystywany jako jedyne kryterium do diagnozowania dengi.
- Testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM nie należy używać do określenia serotypów Dengue.
- Możliwe są serologiczne reakcje krzyżowe z SARS-CoV-2, jak również z grupą flawiwirusów (zapalenie mózgu St. Louis, wirus Zachodniego Nilu, japońskie zapalenie mózgu i wirus żółtej febry). Pozytywne wyniki należy potwierdzić innymi metodami. Te reakcje krzyżowe powinny być brane pod uwagę przy podejmowaniu decyzji dotyczących szczepień.
- Ciągłość obecności przeciwciał lub jej braku, nie powinno się wykorzystywać do określenia sukcesu lub niepowodzenia terapii.
- Wyniki pacjentów z obniżoną odpornością powinny być interpretowane z ostrożnością.
- Jezeli wynik badania jest ujemny, ale objawy kliniczne utrzymują się, wskazane jest wykonanie dodatkowych badań innymi metodami klinicznymi, np. B. PCR lub ELISA. Ujemny wynik nigdy nie wyklucza niedawnej infekcji dengą.
- Negatywny wynik testu dla Dengue NS1 Ag może wystąpić również wtedy, gdy ilość antygenów wirusa Dengue w próbce znajduje się poniżej granicy wykrywalności testu albo gdy wykryte antygeny Dengue-Virus-NS1 nie istniały, podczas stadium choroby, w którym próbka została pobrana. Niektórzy pacjenci nie wytwarzają wykrywalnych poziomów przeciwciał IgM z wczesnym lub powtarzającym się zakażeniem dengą.
- Obecność wykrywalnego Dengue NS1-Ag może wskazywać na pozytywny wynik wczesnego zakażenia dengą.
- Można oczekiwać, że antygen Dengue NS1 zostanie wykryty 1 dzień po wystąpieniu gorączki i może utrzymywać się do 9 dni zarówno w pierwotnych, jak i wtórnych zakażeniach dengą.

13. Charakterystyka testu

Właściwości kliniczne

Czułość i swoistość diagnostyczna

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM oceniano na próbkach klinicznych, których status został potwierdzony testem ELISA dla prawej strony kasetki testowej (test Dengue IgG/IgM) oraz metodą PCR dla lewej strony kasetki testowej NS1 Ag Test).

Wyniki przedstawiono w poniższych tabelach.

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgM) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM)	Dengue IgM ELISA			
		Pozytyw- ny	Negatyw- ny	Suma
	Pozytywny	155	5	160
	Negatywny	8	169	177
Suma	163	174	337	

Czułość diagnostyczna: 95,09% (90,62% - 97,49%)*
Swoistość diagnostyczna: 97,13% (93,45% - 98,77%)*
Ogólna zgodność: 96,14% (93,51% - 97,73%)*
*95% przedział ufności

Test NADAL® Dengue Ag + IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue Ag + IgG/IgM (IgG)	Dengue IgG ELISA			
		Pozytyw- ny	Negatyw- ny	Suma
	Pozytywny	138	7	145
	Negatywny	6	167	173
Suma	144	174	318	

Czułość diagnostyczna: 95,83% (91,21% - 98,08%)*
Swoistość diagnostyczna: 95,98% (91,93% - 98,04%)*
Ogólna zgodność: 95,91% (93,13% - 97,60%)*
*95% przedział ufności

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag) vs. PCR

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag)	PCR			
		Pozytyw- ny	Negatyw- ny	Suma
	Pozytywny	155	7	162
	Negatywny	10	192	202
Suma	165	199	364	

Czułość diagnostyczna: 93,94% (89,20% - 96,68%)*
Swoistość diagnostyczna: 96,48% (92,92% - 98,29%)*
Ogólna zgodność: 95,33% (92,65% - 97,06%)*
*95% przedział ufności

Właściwości analityczne

Granica wykrywalności

Granica wykrywalności testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM to 50 ng/mL rekombinowanego antygeny Dengue NS1.

Substancje interferujące

Ujemne, słabo dodatnie próbki osocza IgG i IgM przeciwko wirusowi dengi, a także słabo dodatnie próbki osocza NS1-Ag Dengue zmieszane z następującymi substancjami interferującymi i nie wykazały one interferencji z testem NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Substancja	Stężenie
Albumina	60 g/L
Paracetamol/Acetaminofen)	0,2 mg/mL
Artropina	0,2 mg/mL
Kwas acetylosalicylowy	0,2 mg/mL
Kwas askorbinowy	0,2 mg/mL
Bilirubina	0,2 mg/mL
Kreatynina	442 µmol/L
Cytrynian sodu	3,80 %
Kofeina	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Hemoglobina	2 g/L
Heparyna sodowa	3000 IU/mL
Glukoza	55 mmol/L
Kwas salicylowy	4,34 mmol/L

Reakcje krzyżowe

Negatywne, słabo dodatnie próbki surowicy IgM i IgG Dengue i słabo dodatnie próbki surowicy Dengue NS1-Ag zostały wzbogacone następującymi potencjalnie zakłócającymi

substancjami i przetestowane za pomocą testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Substancja	Stężenie
Anty-HAV IgM	Pozytywny
HbsAg	Pozytywny
anty-HCV IgM	Pozytywny
anty- <i>H. pylori</i> IgG	Pozytywny
anty- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> IgM	Pozytywny
anty- <i>Treponema pallidum</i> IgG	Pozytywny
Czynniki reumatoidalne	2500 IU/mL

Podczas testowania testem NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej z próbkami.

Precyzyjność

Powtarzalność

Powtarzalność określono, badając 20 powtórzeń próbek surowicy przeciwko wirusowi dengi, odpowiednio IgM i IgG, ujemnych, słabo, średnio i wysoko dodatnich, oraz równą liczbę ujemnych, słabo, średnio i wysoko dodatnich próbek surowicy Dengue NS1 Ag, oznaczonych przy użyciu 3 niezależne serie testów NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM. >99% próbek zostało prawidłowo oznaczonych (20/20 prawidłowych testów na stężenie, 95% przedział ufności: 95,5% - 100%). Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM wykazał akceptowalną powtarzalność i odtwarzalność.

Odtwarzalność

Odtwarzalność oceniono, badając 5 powtórzeń negatywnych, słabo, średnio i wysoko dodatnich próbek surowicy przeciwko wirusowi dengi, odpowiednio IgM i IgG, oraz oznaczono taką samą liczbę ujemnych, słabo, średnio i wysoko dodatnich próbek surowicy Dengue NS1-Ag. Testy przeprowadzono w 5 różnych dniach przez 5 operatorów przy użyciu 3 niezależnych serii testów NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM w 3 ośrodkach. >99% próbek zostało oznaczonych poprawnie (375/375 prawidłowe testy na stężenie, 95% przedział ufności: 99,8% - 100%). Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM wykazał akceptowalną powtarzalność i odtwarzalność.

14. Powiadomienie o poważnych incydentach

W przypadku poważnych incydentów związanych z wykonywaniem testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM proszę niezwłocznie poinformować nal von minden GmbH i odpowiednie władze. Jeśli to możliwe, **nie wyrzucać** użytego testu i odpowiednich części zestawu testowego.

15. Bibliografia

- Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6:251-264.
- Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481.
- Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Japanese J. Trop. Med. Hygiene 1994; 22: 9-12.
- Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. Rev. Med. Micro. 1995; 6:39-48.
- Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
- Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. Wien Med Wochenschr (in German). 1997; 147(19-20): 463-4.
- Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.

1. Utilização Pretendida

O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral para a deteção e diferenciação qualitativa dos antígenos NS1 do vírus da dengue, bem como dos anticorpos IgG e IgM anti-dengue em amostras humanas de sangue total, soro ou plasma (ver secção 12 "Limitações"). O teste destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções primárias e secundárias do vírus da dengue em doentes com doença febril de origem desconhecida, principalmente associada a regiões tropicais, que apresentem sintomas como febre súbita com dores de cabeça intensas e dores nos membros (ver secção 12 "Limitações"). O procedimento do teste não é automatizado e não requer qualquer formação ou qualificação especial. O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM foi concebido apenas para uso profissional.

2. Introdução e Significado Clínico

O vírus da dengue é um flavivírus transmitido principalmente pelos mosquitos tigre *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Está amplamente distribuído pelas áreas tropicais e subtropicais do mundo e causa anualmente até 100 milhões de infeções. A infeção clássica por dengue é caracterizada por um início súbito de febre, dor de cabeça intensa, mialgia, artralgia e erupção cutânea.

A infeção primária por dengue causa o aumento das IgM para um nível detetável, cerca de 5 dias após o início da febre. As IgM persistem geralmente durante 30 a 90 dias. A maioria dos doentes com dengue em regiões endémicas têm infeções secundárias, resultando em altos níveis de IgG específicas, antes da resposta das IgM ou em simultâneo com esta. Por conseguinte, a deteção de IgM e IgG anti-dengue específicas pode também ajudar a distinguir entre as infeções primárias e secundárias.

A NS1 é uma das 7 proteínas não estruturais do vírus da dengue que se pensa estarem envolvidas na replicação viral. A NS1 existe na sua forma imatura como monómero, mas é rapidamente processada no retículo endoplasmático para formar um dímero estável. Uma pequena quantidade da NS1 permanece associada a organelos intracelulares, onde se acredita estar envolvida na replicação viral. A restante quantidade da NS1 está associada à membrana plasmática ou é secretada como um hexámero solúvel. A NS1 é essencial para a viabilidade viral, mas a sua função biológica precisa é desconhecida. Os anticorpos produzidos em resposta à NS1 em infeções virais podem reagir cruzadamente com os antígenos de superfície celular em células epiteliais e plaquetas. Isto pode ter implicações no desenvolvimento da febre hemorrágica da dengue.

3. Princípio do Teste

O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral para a deteção e diferenciação qualitativa dos antígenos NS1 do vírus da dengue, bem como dos anticorpos IgG e IgM anti-dengue em amostras humanas de sangue total, soro ou plasma.

O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM contém duas tiras de teste internas (lado esquerdo da cassette de teste: Teste Dengue NS1 Ag; lado direito da cassette de teste: Teste Dengue IgG/IgM).

Os anticorpos contra o vírus da dengue NS1 são imobilizados na região da linha de teste 'T' da membrana. Os anticorpos IgM e IgG anti-dengue são imobilizados nas regiões da linha de teste da membrana designadas 'IgM' e 'IgG', respetivamente.

Durante o teste, os antígenos do vírus da dengue NS1, se presentes na amostra, ligam-se aos anticorpos do vírus da dengue NS1, que estão conjugados a partículas coloridas e pré-revestidos na almofada de conjugação da cassette de teste. Se na amostra estiverem presentes anticorpos IgM ou IgG específicos contra o vírus da dengue, estes ligam-se aos antígenos do vírus da dengue conjugados a partículas coloridas e pré-revestidos na almofada de conjugação da cassette de teste. A mistura migra então ao longo da membrana por ação capilar e interage com os reagentes da membrana. Os complexos são então capturados por anticorpos contra o vírus da dengue NS1, bem como por anticorpos IgM e IgG anti-dengue nas regiões da linha de teste 'T', e também 'IgM' e 'IgG', respetivamente. As partículas coloridas em excesso são capturadas em cada região 'C' da linha de controlo. A presença de uma linha colorida na região da linha de teste 'T' e/ou 'IgM' e/ou 'IgG' indica um resultado positivo. A ausência de uma linha colorida na região da linha de teste 'T' e/ou 'IgM' e/ou 'IgG' indica um resultado negativo.

A formação de uma linha colorida em cada região da linha de controlo 'C' serve como controlo do procedimento, indicando que um volume adequado de amostra foi adicionado e que ocorreu a capilaridade da membrana.

4. Reagentes e Materiais Fornecidos

- 10 cassetes de teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, incluindo pipetas descartáveis (40 µL) para dengue NS1 Ag
- 10 tubos capilares (10 µL) para dengue IgG/IgM
- 1 solução tampão (3 mL)*
- 1 folheto informativo

* contendo o seguinte conservante: azida de sódio: <0,1%.

Não é necessária a rotulagem dos perigos para a azida de sódio nos termos do Regulamento (CE) Nº 1272/2008 CLP. As concentrações são inferiores ao limiar de isenção de 0,1%.

5. Materiais Adicionais Necessários

- Recipientes de recolha de amostras (apropriados para o material de amostra a ser testado)
- Centrifuga (apenas para amostras de soro ou plasma)
- Compressas de álcool
- Lancetas (apenas para amostras de sangue total por picada no dedo)
- Temporizador

6. Armazenamento e Estabilidade

Os kits de teste devem ser armazenados a 2-30°C até à data de validade indicada. As cassetes de teste são estáveis até à data de validade impressa nas embalagens de alumínio. As cassetes de teste devem permanecer nas embalagens de alumínio seladas até à data de utilização. Não congelar os kits de teste. Não utilizar os kits de teste para além da data de validade indicada nas embalagens. Deverão ser tomadas precauções a fim de proteger os componentes dos kits de teste de contaminações. Não utilizar os componentes dos kits de teste se existirem evidências de contaminação microbiana ou de precipitação. A contaminação biológica do equipamento

de dispensação, dos recipientes ou dos reagentes pode conduzir a resultados imprecisos.

7. Advertências e Precauções

- Apenas para uso profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Ler cuidadosamente todas as instruções de utilização antes de iniciar o teste.
- Não utilizar o teste após a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar os componentes do kit de teste se a embalagem primária estiver danificada.
- Os testes são de utilização única.
- Não adicionar amostras à área de reação (área de resultado).
- A fim de evitar a contaminação, não tocar na área de reação (área de resultado).
- Evitar a contaminação cruzada de amostras, utilizando um novo recipiente de recolha de amostras para cada amostra obtida.
- Não substituir ou misturar componentes de diferentes kits de teste.
- Não utilizar a solução tampão se esta estiver descolorida ou turva. A descoloração ou turvação pode ser um sinal de contaminação microbiana.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento das amostras e dos kits de teste.
- Utilizar vestuário de proteção como bata de laboratório, luvas descartáveis e proteção ocular durante o manuseamento e testagem das amostras.
- Manusear todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Observar as precauções estabelecidas quanto aos riscos microbiológicos durante todos os procedimentos e respeitar as diretrizes padrão para a eliminação apropriada das amostras.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O conhecimento certificado da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Por conseguinte, é recomendado que estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (e.g., não ingerir ou inalar).
- A temperatura pode afetar negativamente os resultados dos testes.
- Os materiais de teste utilizados devem ser eliminados de acordo com os regulamentos locais.

8. Recolha e Preparação das Amostras

O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM pode ser realizado utilizando sangue total (de punção venosa ou picada no dedo), soro ou plasma.

Para recolha das amostras de sangue total por picada no dedo:

- Lavar a mão do paciente com sabão e água morna ou limpá-la com uma compressa com álcool. Deixar secar.
- Massajar a mão, sem tocar no local da punção, esfregando ao longo da mão em direção à ponta do dedo do meio ou do dedo anelar.
- Puncionar a pele com uma lanceta esterilizada. Limpar a primeira gota de sangue.

- Esfregar suavemente a mão do pulso para a palma da mão e em seguida para o dedo para formar uma gota arredondada de sangue sobre o local da punção.

O sangue total por picada no dedo deve ser testado de imediato.

Amostras de sangue total por punção venosa

Os recipientes contendo anticoagulantes, tais como o EDTA, citrato de sódio ou heparina de sódio devem ser utilizados para a preparação de amostras de sangue total venoso ou plasma.

Os testes devem ser realizados imediatamente após a recolha das amostras. Não deixar as amostras à temperatura ambiente por longos períodos de tempo.

Se o teste for realizado nas 24 horas seguintes à recolha da amostra, o sangue total colhido por punção venosa deve ser armazenado a 2-8°C.

Não congelar as amostras de sangue total.

Amostras de soro e plasma

Separar o soro ou plasma do sangue logo que possível para evitar a hemólise. Utilizar apenas amostras límpidas e não hemolisadas.

O teste deve ser realizado imediatamente após a recolha da amostra. Não deixar as amostras à temperatura ambiente durante períodos de tempo prolongados. As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas a 2-8°C por até 5 dias. Para o armazenamento de longo prazo, as amostras devem ser mantidas a -20°C.

Colocar as amostras à temperatura ambiente antes de serem testadas. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes de serem testadas. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.

Se as amostras tiverem de ser enviadas, devem ser embaladas em conformidade com todos os regulamentos aplicáveis para o transporte de agentes etiológicos.

As amostras de origem icterica, lipémica, hemolisadas, tratadas termicamente e contaminadas podem levar a resultados de teste imprecisos.

9. Procedimento do Teste

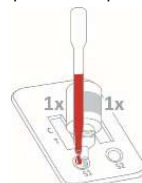
Colocar os testes, as amostras, a solução tampão e/ou os controlos à temperatura ambiente (15-30°C) antes da realização dos testes.

1. Retirar a cassete de teste da embalagem de alumínio e utilizá-la o mais rapidamente possível. Obter-se-ão os melhores resultados se o teste for realizado imediatamente após a abertura da embalagem de alumínio. Rotular a cassete de teste com a identificação do paciente ou do controlo.

2. Colocar a cassete de teste numa superfície limpa e nivelada.

3. a) Vírus da dengue NS1 Ag

- Segurando uma pipeta na vertical, transferir 1 gota (aproximadamente 30-45 µL) da amostra de sangue total, soro ou plasma para o poço da amostra (S1) da cassete de teste.



- Segurando o frasco da solução tampão na vertical, adicionar 1 gota (cerca de 30-40 µL) de solução tampão ao poço da amostra (S1).

Evitar o aprisionamento de bolhas de ar no poço da amostra (S1) e não adicionar qualquer solução à área de resultado.

b) Anticorpos IgG/IgM do vírus da dengue

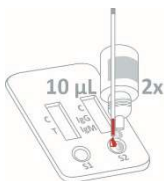
- Segurando o tubo capilar na vertical, retirar a amostra (sangue total/soro/plasma) até à linha de enchimento (aproximadamente 10 µL) e adicioná-la ao poço da amostra (S2) da cassette de teste. **Em alternativa, pode ser utilizada uma micropipeta (10 µL).**

- Segurando o frasco da solução tampão na vertical, adicionar 2 gotas (aproximadamente 70 µL) de solução tampão ao poço da amostra (S2).

Evitar o aprisionamento de bolhas de ar no poço da amostra (S2) e não adicionar qualquer solução à área de resultado.

4. Iniciar o temporizador.

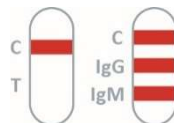
- 5. Aguardar que a(s) linha(s) colorida(s) apareça(m). Ler o resultado do teste após 15 minutos. Os resultados positivos podem ser visíveis em apenas 1 minuto. Não interpretar o resultado depois de mais de 20 minutos.



O resultado do teste indica a presença de anticorpos IgG contra o vírus da dengue, sugerindo a fase tardia de uma infecção primária, secundária precoce ou anterior.

Positivo para os anticorpos IgM e IgG do vírus da dengue:

Uma linha colorida surge em cada região da linha de controlo 'C'. Na região da linha de teste 'IgM' desenvolve-se uma linha colorida e na região da linha de teste 'IgG' desenvolve-se outra.

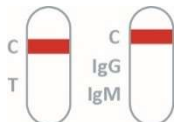


O resultado do teste indica a presença de anticorpos IgM e IgG do vírus da dengue, sugerindo uma infecção primária corrente ou uma infecção secundária precoce do vírus da dengue.

Nota: A intensidade da cor nas regiões da linha de teste 'T', 'IgM' ou 'IgG' poderá variar em função da concentração dos antígenos NS1 do vírus da dengue ou dos anticorpos anti-dengue na amostra. Portanto, qualquer tonalidade de cor na região da linha de teste 'T', 'IgG' ou 'IgM' deve ser considerada como positivo. Note-se que este é apenas um teste qualitativo e não pode determinar a concentração do analito na amostra.

Negativo:

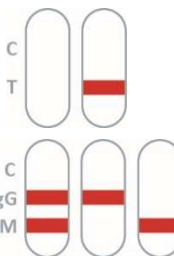
Surge uma linha colorida em cada região da linha de controlo 'C'. Não se desenvolvem linhas coloridas na região da linha de teste 'T', 'IgM' ou 'IgG'.



Inválido:

A linha de controlo (C) não aparece. Os resultados de qualquer teste que não tenha produzido uma linha de controlo no tempo de leitura especificado devem ser descartados.

Por favor, reveja o procedimento e repita o teste com uma nova cassette de teste. Se o problema persistir, interrompa de imediato a utilização do kit de teste e contacte o seu distribuidor.



Um volume insuficiente de amostra, um procedimento operacional incorreto ou testes fora de prazo são as razões mais prováveis para a falha da linha de controlo.

11. Controlo de Qualidade

O controlo interno do procedimento é incluído na cassette de teste:

A linha colorida que surge na região da linha de controlo (C) é considerada um controlo interno positivo do procedimento. Esta confirma um volume suficiente de amostra, um procedimento técnico correto e uma absorção adequada pela membrana.

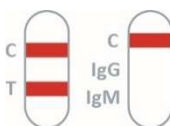
As *Boas Práticas de Laboratório (BPL)* recomendam a utilização de materiais de controlo externo para assegurar o desempenho adequado do kit de teste.

10. Interpretação dos Resultados

Positivo para o vírus da dengue NS1 Ag:

Uma linha colorida surge em cada região da linha de controlo 'C'. Uma outra linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'T'.

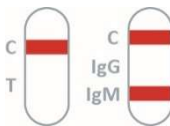
O resultado do teste indica a presença do vírus da dengue NS1 Ag, sugerindo uma infecção inicial, aguda primária ou secundária.



Positivo para o anticorpo IgM do vírus da dengue:

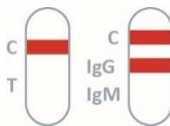
Uma linha colorida surge em cada região da linha de controlo 'C'. Uma outra linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgM'.

O resultado do teste indica a presença de anticorpos IgM contra o vírus da dengue, sugerindo uma infecção primária recente pelo vírus da dengue.



Positivo para o anticorpo IgG do vírus da dengue:

Uma linha colorida surge em cada região da linha de controlo 'C'. Uma outra linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgG'.



12. Limitações

- O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM destina-se apenas à utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*. O teste deve ser utilizado apenas para a deteção e diferenciação qualitativa dos antígenos NS1 do vírus da dengue, bem como dos anticorpos IgG e IgM contra o vírus da dengue em amostras humanas de sangue total, soro ou plasma.
- Tanto o valor quantitativo como a taxa de aumento/diminuição da concentração dos antígenos do vírus da dengue NS1 ou dos anticorpos contra o vírus da dengue não podem ser determinados com este teste qualitativo.
- A precisão do teste depende da qualidade da amostra. Poderão ocorrer resultados de teste imprecisos devido à recolha ou armazenamento inadequado da amostra (ver secção 8 "Recolha e Preparação das Amostras").
- Algumas amostras contendo títulos involuntariamente elevados de anticorpos heterófilos ou de fator reumatoide podem afetar os resultados dos testes.
- Tal como em todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados por um médico em conjunto com outra informação clínica disponível.
- O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM deteta apenas a presença de antígenos do vírus da dengue NS1 e de anticorpos contra o vírus da dengue em amostras e não deve ser utilizado como único critério para um diagnóstico de dengue.
- O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM não pode ser utilizado para determinar os serotipos do vírus da dengue.
- É possível a reatividade cruzada serológica com o SARS-CoV-2, assim como no grupo dos flavivírus (encefalite de São Luís, vírus do Nilo Ocidental, encefalite japonesa e vírus da febre amarela). Os resultados positivos devem ser confirmados através de outros métodos. Estas reatividades cruzadas devem ser tidas em conta na tomada de decisões relacionadas à vacinação.
- A presença ou ausência continuada de anticorpos não pode ser utilizada para determinar o sucesso ou o fracasso da terapia.
- Os resultados de doentes imunossuprimidos devem ser interpretados com cautela.
- Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se a realização de testes adicionais utilizando outros métodos clínicos, tais como PCR ou ELISA. Um resultado negativo não exclui em momento algum a possibilidade de uma infeção recente por dengue.
- Um resultado negativo para os antígenos NS1 do vírus da dengue pode ocorrer se a quantidade de antígenos NS1 do vírus da dengue presentes na amostra for inferior ao limite de deteção do teste ou se os antígenos NS1 do vírus da dengue detetados não estiverem presentes durante a fase da doença em que a amostra foi colhida. Alguns doentes podem não produzir níveis detetáveis de anticorpos IgM em infeções por dengue precoces ou repetidas.
- A presença detetável do vírus da dengue NS1 Ag pode significar um resultado positivo para uma infeção precoce por dengue.
- Espera-se que o antígeno NS1 do vírus da dengue seja detetável 1 dia após o início da febre e pode persistir até 9

dias tanto em infeções por dengue primárias como secundárias.

13. Características de Desempenho

Desempenho clínico

Sensibilidade e especificidade diagnóstica

O Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM foi avaliado utilizando amostras clínicas cujo estado foi confirmado através do teste ELISA para o lado direito da cassete de teste (Teste Dengue IgG/IgM) e através do PCR para o lado esquerdo da cassete de teste (Teste Dengue NS1 Ag).

Os resultados são apresentados nas tabelas seguintes:

Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM)	Dengue IgM ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	155	5	160
Negativo	8	169	177
Total	163	174	337

Sensibilidade diagnóstica: 95,09% (90,62% - 97,49%)*

Especificidade diagnóstica: 97,13% (93,45% - 98,77%)*

Concordância global: 96,14% (93,51% - 97,73%)*

*intervalo de confiança de 95%

Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG)	Dengue IgG ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	138	7	145
Negativo	6	167	173
Total	144	174	318

Sensibilidade diagnóstica: 95,83% (91,21% - 98,08%)*

Especificidade diagnóstica: 95,98% (91,93% - 98,04%)*

Concordância global: 95,91% (93,13% - 97,60%)*

*intervalo de confiança de 95%

Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag) vs. PCR

Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag)	PCR		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	155	7	162
Negativo	10	192	202
Total	165	199	364

Sensibilidade diagnóstica: 93,94% (89,20% - 96,68%)*

Especificidade diagnóstica: 96,48% (92,92% - 98,29%)*

Concordância global: 95,33% (92,65% - 97,06%)*

*intervalo de confiança de 95%

Desempenho analítico

Limite de deteção

O limite de deteção do Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM é de 50 ng/mL de antígeno recombinante do vírus da dengue NS1.

Substâncias interferentes

Amostras de soro negativas e fracamente positivas de anticorpos IgM e IgG anti-dengue, bem como amostras de soro fracamente positivas de dengue NS1 Ag contaminadas com as seguintes substâncias potencialmente interferentes não mostraram qualquer interferência com o Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Substância	Concentração
Albumina	60 g/L
Paracetamol (Acetaminofeno)	0,2 mg/mL
Atropina	0,2 mg/mL
Ácido acetilsalicílico	0,2 mg/mL
Ácido ascórbico	0,2 mg/mL
Bilirrubina	0,2 mg/mL
Creatinina	442 µmol/L
Citrato de sódio	3,80 %
Cafeína	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Hemoglobina	2 g/L
Heparina de sódio	3000 IU/mL
Glucose	55 mmol/L
Ácido salicílico	4,34 mmol/L

Reatividade cruzada

Amostras de soro negativas e fracamente positivas de anticorpos IgM e IgG anti-dengue, bem como amostras de soro fracamente positivas de dengue NS1 Ag foram contaminadas com as seguintes substâncias com potencial de reação cruzada e testadas usando o Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Substância	Concentração
anti-HAV IgM	Positivo
HBsAg	Positivo
anti-HCV IgM	Positivo
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Positivo
anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> IgM	Positivo
anti- <i>Treponema pallidum</i> IgG	Positivo
Fatores reumatóides (FR)	2500 IU/mL

Não foi observada reatividade cruzada com as amostras quando testadas usando o Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Precisão

Repetibilidade

A repetibilidade foi estabelecida através do teste de 20 réplicas de amostras de soro de anticorpos IgM e IgG anti-dengue negativas, fracamente, medianamente e altamente positivas, respetivamente, bem como o mesmo número de amostras de soro de dengue NS1 Ag negativas, fracamente, medianamente e altamente positivas, usando 3 lotes de testes NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM. >99% das amostras foram identificadas corretamente (20/20 testes corretos por concentração, intervalo de confiança de 95%: 95,5% - 100%). O teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM demonstrou uma repetibilidade aceitável.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi estabelecida através do teste de 5 réplicas de amostras de soro de anticorpos IgM e IgG anti-dengue negativas, fracamente, medianamente e altamente positivas, respetivamente, bem como o mesmo número de amostras de soro de dengue NS1 Ag negativas, fracamente, medianamente e altamente positivas. Os testes foram realizados por 5 operadores utilizando 3 lotes independentes de testes de NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM em 3 locais e em 5 dias separados. >99% das amostras foram identificadas corretamente (375/375 testes corretos por concentração, intervalo de confiança de 95%: 99,8% - 100%). O Teste

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM demonstrou uma reprodutibilidade aceitável.

14. Notificação de incidentes graves

Em caso de quaisquer incidentes graves relacionados com o desempenho do Teste NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM, por favor informe de imediato a nal von minden GmbH e a autoridade competente. Se ainda for possível, não descarte o teste utilizado e os respetivos componentes do kit de teste.

15. Referências

- Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. Rev. Infect. Dis. 1984; 6:251-264.
- Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988; 239:476-481.
- Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
- Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro*. 1995; 6:39-48.
- Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
- Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr (in German)*. 1997; 147(19-20): 463-4.
- Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol*. 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 AO

1. Účel použití

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM je imunochromatografický test s laterálním tokem pro kvalitativní detekci a diferenciaci antigenů NS1 viru dengue a protilátek IgG a IgM viru dengue ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy (viz kapitola 12 „Omezení“). Test slouží jako pomůcka ke stanovení diagnózy primární a sekundární infekce virem dengue u pacientů s horečnatým onemocněním neznámého původu spojeným především s tropickými oblastmi, a jež vykazuje příznaky jako je náhlá horečka s intenzivní bolestí hlavy a končetin (viz kapitola 12 „Omezení“). Provedení testu není automatizované a pro jeho provedení není nutné žádné speciální školení nebo kvalifikace. Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM je určen pouze pro profesionální použití.

2. Úvod a klinický význam

Virus dengue je flavivirus přenášený primárně tygřími komáry *Aedes aegypti* a *Aedes albopictus*. Je široce rozšířen v tropických a subtropických oblastech světa a způsobuje až 100 milionů infekcí ročně. Klasická infekce dengue je charakterizována náhlým nástupem horečky, intenzivní bolestí hlavy, bolestí svalů, kloubů a vyrážkou.

Primární infekce dengue způsobuje zvýšení IgM na detekovatelnou hladinu přibližně 5 dní po nástupu horečky. IgM obecně přetrvává po dobu 30 až 90 dnů. Většina pacientů postižených dengue v endemických oblastech má sekundární infekce, které vedou k vysokým hladinám specifických IgG před nebo současně s odpovědí IgM. Detekce specifických protilátek IgM a IgG proti dengue může proto pomoci rozlišit mezi primární a sekundární infekcí.

NS1 je jedním ze 7 nestrukturálních proteinů viru dengue, o nichž se předpokládá, že se podílí na virové replikaci. NS1 existuje v nezralé formě jako monomer, ovšem v endoplazmatickém retikulu se rychle přetváří a vzniká stabilní dimer. Malé množství NS1 zůstává spojeno s intracelulárními organelami a předpokládá se, že se podílí na replikaci viru. Zbytek NS1 je buď spojen s plazmatickou membránou nebo je vylučován jako rozpustný hexadimer. NS1 je nezbytný pro životaschopnost viru, ale jeho přesná biologická funkce není známa. Protilátky vytvořené v reakci na NS1 při virových infekcích mohou vykazovat křížovou reaktivitu s povrchovými antigeny buněk na epitelových buňkách a destičkách. To může mít vliv na rozvoj hemoragické horečky dengue.

3. Princip testu

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM je imunochromatografický test s laterálním tokem pro kvalitativní detekci a diferenciaci antigenů NS1 viru dengue a protilátek IgG a IgM proti viru dengue ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy.

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM obsahuje dva vnitřní testovací proužky (levá strana testovací kazety: Test Dengue NS1 Ag; pravá strana testovací kazety: Test Dengue IgG/IgM).

Protilátky NS1 proti viru dengue jsou imobilizovány v oblasti testovací linie „T“ na membráně. Protilátky IgM a protilátky IgG proti viru dengue jsou imobilizovány v daném pořadí v oblasti testovacích linií na membráně označených „IgM“ a „IgG“.

Během testu se antigeny NS1 viru dengue, pokud jsou ve vzorku přítomny, vážou na protilátky NS1 proti viru dengue, které jsou konjugovány s barevnými částicemi a předem nanесeny na konjugovaná podložku testovací kazety. Pokud jsou ve vzorku přítomny specifické protilátky IgM nebo protilátky IgG proti viru dengue, navážou se na antigeny viru dengue konjugované s barevnými částicemi a předem nanесené na konjugovaná podložku testovací kazety. Směs poté dále putuje membránou působením kapilárních sil a reaguje s činidly na membráně. Tyto komplexy jsou pak zachyceny protilátkami NS1 proti viru dengue, protilátkami IgM a protilátkami IgG proti viru dengue v oblasti testovacích linií „T“, „IgM“ a „IgG“ v daném pořadí. Přebytké barevné částice jsou zachyceny v každé oblasti kontrolní linie „C“. Přítomnost barevné linie v oblasti testovací linie „T“ a/nebo „IgM“ a/nebo „IgG“ poukazuje na pozitivní výsledek. Absence barevné linie v oblasti testovací linie „T“ a/nebo „IgM“ a/nebo „IgG“ poukazuje na negativní výsledek.

Zobrazení barevné linie v každé oblasti kontrolní linie „C“ slouží jako procedurální kontrola a indikuje, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a že došlo k promočení membrány.

4. Činidla a dodávané materiály

- 10 NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM testovacích kazet, vč. jednorázových pipet (40 µL) pro NS1 Ag dengue
- 10 kapilárních trubiček (10 µL) pro IgG/IgM dengue
- 1 pufr (3 mL)*
- 1 návod k použití

*obsahuje následující konzervanty: azid sodný: < 0,1 %.

V souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008 CLP není pro azid sodný povinné označování nebezpečnosti. Koncentrace jsou nižší než mezní limit < 0,1 %.

5. Další potřebné materiály

- Nádob pro odběr vzorku (vhodné pro testovaný vzorek)
- Centrifuga (pouze pro vzorky séra nebo plazmy)
- Alkoholové tampóny
- Lancety (pouze pro vzorky plné krve z prstu)
- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Testovací sady by měly být skladovány při 2-30°C do data expirace. Testovací kazety jsou trvanlivé až do data expirace vytištěného na ochranné fólii. Testovací kazety by do doby použití měly zůstat v zapечатěné ochranné fólii. Testovací sady nezmrzají. Testy nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu. Dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci komponentů sady. Komponenty testovací sady nepoužívejte, pokud existuje podezření, že došlo k mikrobiální kontaminaci nebo sražení. Biologická kontaminace pipet, nádob nebo činidel může vést k nesprávným výsledkům.

7. Varování a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte celý návod k použití.
- Test nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu.
- Nepoužívejte komponenty testovací sady, je-li primární obal poškozen.

- Testy jsou určeny pouze k jednorázovému použití.
- Nenanášejte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční oblasti (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Pro každý vzorek používejte novou nádobu, aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků.
- Nezaměřujte a nemíchejte komponenty z různých testovacích sad.
- Nepoužívejte pufr, pokud je zbarvený nebo zakalený. Zbarvení nebo zakalení může být známkou mikrobiální kontaminace.
- Nejezte, nepijte ani nekuřte v místě, kde se zachází se vzorky a testovacími sadami.
- Během testování vzorků používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- Se všemi vzorky zacházejte jako s potenciálně infekčními. V průběhu všech testovacích kroků dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik a řiďte se standardními předpisy pro správnou likvidaci vzorků.
- Testovací sada obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je tudíž doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potenciálně infekčními a dle běžných bezpečnostních opatření (např. nepolykejte nebo nevdechujte).
- Teplota může nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.

8. Odběr a příprava vzorku

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM může být proveden se vzorky plné krve (odebrané venepunkcí nebo z prstu), séra nebo plazmy.

Odběr vzorku plné krve z prstu:

- Umyjte pacientovu ruku pomocí mýdla a teplé vody nebo ji očistěte alkoholovým tampónem. Nechte ji oschnout.
- Masírujte ruku a třete ji směrem k bříšku prostředníčku nebo prsteničku, aniž byste se dotkli místa vpichu.
- Propíchněte pokožku pomocí sterilní lancety. První kapku krve setřete.
- Opatrně třete ruku od zápěstí k dlaní a poté k prstu a vytvořte kulatou kapku krve na místě vpichu.

Plná krev z prstu by měla být testována okamžitě.

Vzorky plné krve odebrané venepunkcí

Pro přípravu vzorků venózní plné krve nebo plazmy by měly být použity nádoby obsahující antikoagulanty jako jsou EDTA, citrónan sodný nebo heparin sodný.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě.

Pokud bude test proveden do 24 hodin od odběru vzorku, měla by být plná krev odebraná venepunkcí skladována při teplotě 2-8°C.

Vzorky plné krve nezmrazujte.

Vzorky séra a plazmy

Oddělte sérum nebo plazmu od krve co nejdříve, aby se předešlo hemolýze. Používejte pouze čisté, nehemolyzované vzorky.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě. Vzorky séra a plazmy mohou být skladovány při teplotě 2-8°C po dobu nejdéle 5 dnů. V případě dlouhodobého skladování udržujte vzorky při teplotě -20 °C.

Před testováním nechte vzorky dosáhnout pokojové teploty. Zmrazené vzorky by měly být před testováním řádně rozmrazeny a promíchány. Vzorky opakovaně nezmrazujte a nerozmrazujte.

Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabalené v souladu s místními předpisy pro přepravu etiologických agens.

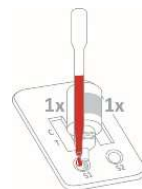
Ikterické, lipemické, hemolyzované, tepelně ošetřené a kontaminované vzorky mohou způsobit chybné výsledky.

9. Provedení testu

Testy, vzorky, pufr a/nebo kontroly nechte před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30°C).

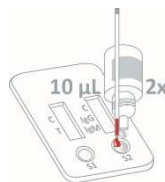
1. Testovací kazetu vyjměte z ochranné fólie a použijte ji co nejdříve. Nejlepších výsledků dosáhnete, pokud test provedete okamžitě po otevření ochranné fólie. Vyznačte na testovací kazetu identifikaci pacienta nebo kontroly.
2. Položte testovací kazetu na čistou a rovnou plochu.
3. a) **NS1 Ag viru dengue**

- Držte pipetu svisle, přenešte 1 kapku (cca 30-45 µL) vzorku plné krve, séra nebo plazmy do otvoru pro vzorek (S1) na testovací kazetě.
 - Držte lahvičku s pufrům svisle, přidejte 1 kapku (cca 30-40 µL) pufru do otvoru pro vzorek (S1).
- Zamezte utváření bublin v otvoru pro vzorek (S1) a nepřidávejte žádný roztok do výsledkové oblasti.**



b) Protilátky IgG/IgM proti viru dengue

- Držte kapilární trubičku svisle, nasajte vzorek (plná krev/sérum/plazma) až po značku naplnění (cca 10 µL) a přidejte ho do otvoru pro vzorek (S2) na testovací kazetě.
- Alternativně může být použita mikropipeta (10 µL).**
- Držte lahvičku s pufrům svisle, přidejte 2 kapky (cca 70 µL) pufru do otvoru pro vzorek (S2).
- Zamezte utváření bublin v otvoru pro vzorek (S2) a nepřidávejte žádný roztok do výsledkové oblasti.**



4. Spusťte stopky.
5. Vyčkejte, dokud se nezobrazí barevná/barevné linie. Výsledek odečtěte po 15 minutách. Pozitivní výsledky mohou být viditelné již po 1 minutě. Po více než 20 minutách již výsledek neodečítejte.

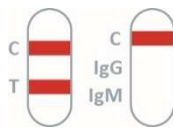


10. Vyhodnocení výsledků

Pozitivní na NS1 Ag viru dengue:

Barevná linie se vytvoří v každé oblasti kontrolní linie „C“. Další barevná linie se vytvoří v oblasti testovací linie „T“.

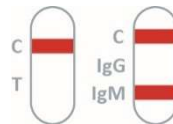
Výsledek testu indikuje přítomnost NS1 Ag viru dengue, což svědčí o časně, aktuální primární nebo sekundární infekci.



Pozitivní na protilátky IgM proti viru dengue:

Barevná linie se vytvoří v každé oblasti kontrolní linie „C“. Další barevná linie se vytvoří v oblasti testovací linie „IgM“.

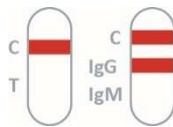
Výsledek testu indikuje přítomnost protilátek IgM proti viru dengue, což svědčí o časně primární infekci virem dengue.



Pozitivní na protilátky IgG proti viru dengue:

Barevná linie se vytvoří v každé oblasti kontrolní linie „C“. Další barevná linie se vytvoří v oblasti testovací linie „IgG“.

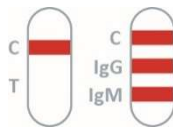
Výsledek testu indikuje přítomnost protilátek IgG proti viru dengue, což svědčí o pozdním stádiu primární, časně sekundární nebo předchozí infekci.



Pozitivní na protilátky IgM a IgG proti viru dengue:

Barevná linie se vytvoří v každé oblasti kontrolní linie „C“. Barevná linie se vytvoří v oblasti testovací linie „IgM“ a další linie se vytvoří v oblasti testovací linie „IgG“.

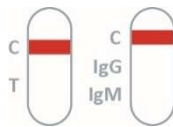
Výsledek testu indikuje přítomnost protilátek IgM a IgG proti viru dengue, což svědčí o aktuální primární nebo časně sekundární infekci virem dengue.



Poznámka: Intenzita barvy v oblasti testovacích linií „T“, „IgM“ nebo „IgG“ se může lišit v závislosti na koncentraci antigenů NS1 viru dengue nebo protilátek proti viru dengue ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací linie „T“, „IgG“ nebo „IgM“ by proto měl být vyhodnocen jako pozitivní. Mějte na vědomí, že se jedná pouze o kvalitativní test, který neurčuje koncentraci analytu ve vzorku.

Negativní:

Barevná linie se vytvoří v každé oblasti kontrolní linie „C“. Neobjeví se žádné barevné linie v oblasti testovacích linií „T“, „IgM“ a „IgG“.

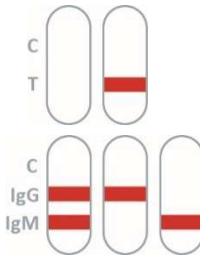


Neplatný:

Nezobrazí se kontrolní linie (C). Výsledky jakéhokoliv testu, na kterém se ve stanoveném čase pro odečítání výsledků nezobrazila kontrolní linie, musí být znehodnoceny.

Revidujte prosím postup a zopakujte test s novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.

Nedostatečné množství vzorku, nesprávné provedení testu nebo prošlý test jsou nejpravděpodobnější důvody k nezobrazení kontrolní linie.



11. Kontrola kvality

Interní procedurální kontrola je zahrnuta v testovacích kazetě:

Barevná linie, která se objeví v každé oblasti kontrolní linie (C), je považována za interní procedurální kontrolu. Potvrzuje použití dostatečného množství vzorku, dodržení správného postupu a dostatečného promočení membrány.

Správná laboratorní praxe (SLP) doporučuje používání externích kontrol k ověření správné výkonnosti testovací sady.

12. Omezení

- Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM slouží pouze k profesionální *in-vitro* diagnostice. Tento test by měl být používán pouze ke kvalitativní detekci a diferenciaci antigenů NS1 viru dengue a protilátek IgG a IgM proti viru dengue ve vzorcích lidské plně krve, séra nebo plazmy.
- Tímto kvalitativním testem nemohou být zjištěny ani kvantitativní hodnota ani míra zvýšení/snížení koncentrace jak antigenů NS1 viru dengue, tak ani protilátek proti viru dengue.
- Přesnost testu závisí na kvalitě vzorku. Nepřesné výsledky testu se mohou objevit z důvodu nesprávného odebrání nebo skladování vzorku (viz kapitola 8 „Odběr a příprava vzorku“).
- Některé vzorky, které obsahují nezvykle vysoké titry heterofilních protilátek nebo revmatoidní faktory, mohou ovlivnit výsledek testu.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by měly být veškeré výsledky vyhodnoceny lékařem v souvislosti s dalšími dostupnými klinickými informacemi.
- Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM detekuje pouze přítomnost antigenů NS1 viru dengue a protilátek proti viru dengue ve vzorcích a neměl by být používán jako jediné kritérium pro stanovení diagnózy dengue.
- Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM nelze použít ke stanovení sérotypů viru dengue.
- Sérologická křížová reakce se SARS-CoV-2 a také napříč skupinou flavivirů (St. Louis encefalitida, West Nile virus, japonská encefalitida a viry žluté horečky) je možná. Pozitivní výsledky by měly být potvrzeny pomocí jiných metod. Tyto křížové reakce je třeba zohlednit při rozhodování o očkování.
- Pokračující přítomnost nebo nepřítomnost protilátek nelze použít k určení úspěchu nebo selhání léčby.

- Výsledky u imunosupresivních pacientů by měly být vyhodnoceny s opatrností.
- Je-li výsledek testu negativní a klinické symptomy přetrvávají, je doporučeno provést další testy za použití jiných klinických metod, například PCR nebo ELISA. Negativní výsledek za žádných okolností nevylučuje možnost infekce dengue.
- Negativní výsledek testu na antigeny NS1 viru dengue se může objevit v případě, pokud je množství antigenů NS1 viru dengue ve vzorku pod mezí detekce testu nebo pokud antigeny NS1 viru dengue nebyly přítomny v té fázi nemoci, ve které byl vzorek odebrán. U některých pacientů se při časných nebo opakovaných infekcích dengue nemusí vytvořit detekovatelné hladiny protilátek IgM.
- Přítomnost detekovatelných NS1 Ag viru dengue může znamenat pozitivní výsledek pro časnou infekci dengue.
- Očekává se, že antigen NS1 viru dengue bude detekovatelný 1 den po nástupu horečky a může přetrvávat až 9 dní u primárních i sekundárních infekcí dengue.

13. Výkonnostní charakteristiky

Klinické funkce

Diagnostická citlivost a specifita

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM byl vyhodnocen pomocí klinických vzorků, jejichž stav byl potvrzen za použití metody ELISA pro pravou stranu testovací kazety (Test Dengue IgG/IgM) a za použití metody PCR pro levou stranu testovací kazety (Test Dengue NS1 Ag).

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgM)	Dengue IgM ELISA			
	Pozitivní	Negativní	Celkem	
	Pozitivní	155	5	160
	Negativní	8	169	177
Celkem	163	174	337	

Diagnostická citlivost: 95,09 % (90,62 %-97,49 %)*

Diagnostická specifita: 97,13 % (93,45 %-98,77 %)*

Celková shoda: 96,14 % (93,51 %-97,73 %)*

*95% interval spolehlivosti

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG) vs. ELISA

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (IgG)	Dengue IgG ELISA			
	Pozitivní	Negativní	Celkem	
	Pozitivní	138	7	145
	Negativní	6	167	173
Celkem	144	174	318	

Diagnostická citlivost: 95,83 % (91,21 %-98,08 %)*

Diagnostická specifita: 95,98 % (91,93 %-98,04 %)*

Celková shoda: 95,91 % (93,13 %-97,60 %)*

*95% interval spolehlivosti

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag) vs. PCR

Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM (NS1 Ag)	PCR			
	Pozitivní	Negativní	Celkem	
	Pozitivní	155	7	162
	Negativní	10	192	202
Celkem	165	199	364	

Diagnostická citlivost: 93,94 % (89,20 %-96,68 %)*

Diagnostická specifita: 96,48 % (92,92 %-98,29 %)*

Celková shoda: 95,33 % (92,65 %-97,06 %)*

*95% interval spolehlivosti

Analytické funkce

Mez detekce

Mez detekce testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM je 50 ng/mL rekombinovaného antigenu NS1 viru dengue.

Interferující látky

Negativní, slabě pozitivní vzorky séra protilátek IgM a IgG proti viru dengue a pozitivní vzorky séra NS1 Ag viru dengue byly obohaceny o následující potenciačně interferující látky a nevykázaly žádnou interferenci s testem NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Látka	Koncentrace
Albumin	60 g/L
Paracetamol (Acetaminofen)	0,2 mg/mL
Atropin	0,2 mg/mL
Kyselina acetylsalicylová	0,2 mg/mL
Kyselina askorbová	0,2 mg/mL
Bilirubin	0,2 mg/mL
Kreatinin	442 µmol/L
Citrát sodný	3,80 %
Kofein	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Hemoglobin	2 g/L
Heparin sodný	3000 IU/mL
Glukóza	55 mmol/L
Kyselina salicylová	4,34 mmol/L

Křížová reaktivita

Negativní, slabě pozitivní vzorky séra protilátek IgM a IgG proti viru dengue a slabě pozitivní vzorky séra NS1 Ag viru dengue byly obohaceny o následující potenciačně křížově reaktivní látky a testovány za použití testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM.

Látka	Koncentrace
protilátky IgM proti HAV	Pozitivní
HBsAg	Pozitivní
protilátky IgM proti HCV	Pozitivní
protilátky IgG proti <i>H. Pylori</i>	Pozitivní
protilátky IgM proti <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Pozitivní
protilátky IgG proti <i>Treponema pallidum</i>	Pozitivní
revmatoidní faktory (RF)	2500 IU/mL

Při testování pomocí testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM nebyla zjištěna žádná křížová reaktivita se vzorky.

Přesnost

Opakovatelnost

Opakovatelnost byla stanovena testováním 20 replikátů negativních, slabě, středně a silně pozitivních vzorků séra protilátek IgM a IgG proti viru dengue v daném pořadí, a dále také stejným počtem negativních, slabě, středně a silně pozitivních vzorků séra NS1 Ag viru dengue za použití 3 šarží testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM. > 99 % vzorků bylo identifikováno správně (20/20 správných testů na koncentraci, 95% interval spolehlivosti: 95,5 %-100 %). Test NADAL®

Dengue NS1 Ag + IgG/IgM prokázal přijatelnou opakovatelnost.

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost byla stanovena testováním 5 replikátů negativních, slabě, středně a silně pozitivních vzorků séra protilátek IgM a IgG proti viru dengue v daném pořadí, a dále také stejným počtem negativních, slabě, středně a silně pozitivních vzorků séra NS1 Ag viru dengue. Testování bylo provedeno 5 uživateli za použití 3 nezávislých šarží testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM na 3 místech po dobu 5 samostatných dnů. > 99 % vzorků bylo identifikováno správně (375/375 správných testů na koncentraci, 95% interval spolehlivosti: 99,8 %-100 %). Test NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM prokázal přijatelnou reprodukovatelnost.

14. Hlášení závažných incidentů

V případě jakýchkoliv závažných incidentů souvisejících s prováděním testu NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM neprodleně informujte společnost nal von minden GmbH a příslušný úřad. Pokud je to možné, **nelikvidujte** použitý test a příslušné komponenty testovací sady.

15. Reference

1. Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI. Dengue. *Rev. Infect. Dis.* 1984; 6:251-264.
2. Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239:476-481.
3. Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
4. Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 1995; 6:39-48.
5. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
6. Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jul; 10(4): 725-8.
7. Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr* (in German). 1997; 147(19-20): 463-4.
8. Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol.* 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 JV

1. Käyttötarkoitus

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testi on lateraalivirtaukseen perustuva kromatografinen immunomääritys dengueviruksen NS1-antigeenien sekä anti-dengueviruksen IgG:n ja IgM:n kvalitatiiviseen havaitsemiseen ja erottamiseen ihmisen kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytteistä (ks. jakso 12 "Rajoitukset"). Testi on tarkoitettu käytettäväksi apuvälineenä primaaristen ja sekundaaristen denguevirusinfektioiden diagnosoinnissa potilailla, joilla on tuntematonta alkuperää oleva, pääasiassa trooppisiin alueisiin liittyvä kuumeinen sairaus ja joilla esiintyy oireita, kuten äkillistä kuumetta, voimakasta päänsärkyä ja raajakipua (ks. kohta 12 "Rajoitukset"). Testausmenettely ei ole automatisoitu eikä vaadi erityistä koulutusta tai pätevyyttä. NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test on tarkoitettu ainoastaan ammattikäyttöön.

2. Johdanto ja kliininen merkitys

Denguevirus on flavivirus, jota levittävät pääasiassa tiikerihyttyset *Aedes aegypti* ja *Aedes albopictus*. Se on levinnyt laajalti koko maailman trooppisille ja subtrooppisille alueille, ja aiheuttaa vuosittain jopa 100 miljoonaa tartuntaa. Tyypilliselle dengue-infektiolelle on ominaista äkillisesti alkava kuume, voimakas päänsärky, lihassärky, nivelkipu ja ihottuma.

Primaarinen dengue-infektio aiheuttaa IgM:n tason nousun havaittavalle tasolle noin 5 päivän kuluttua kuumeen alkamisesta. IgM säilyy yleensä 30-90 päivää. Useimmilla endeemisillä alueilla olevilla dengue-potilailla on sekundaarinen infektio, jolloin spesifisen IgG:n pitoisuudet ovat korkeat ennen IgM-vastetta tai samanaikaisesti IgM-vasteen kanssa. Tämän vuoksi spesifisen anti-dengue IgM:n ja IgG:n osoittaminen voi myös auttaa erottamaan primaarisen ja sekundaarisen infektion toisistaan.

NS1 on yksi seitsemästä dengueviruksen ei-rakenteellisista proteiineista, joiden uskotaan liittyvän viruksen replikaatioon. NS1 esiintyy monomeerinä epäkypsässä muodossaan, mutta se käsitellään nopeasti endoplasmakalvostossa, muodostaen vakaan dimeerin. Pieni määrä NS1:tä pysyy kiinnittyneenä solunsisäisiin organelleihin, missä sen uskotaan osallistuvan viruksen replikaatioon. Loput NS1:stä on todettu joko liittyvän plasmakalvoon tai erittyvän liukoisen heksadimeerinä. NS1 on kestäen viruksen elinkelpoisuudelle, mutta sen tarkkaa biologista funktiota ei tunneta. NS1:tä vastaan tuotetut vastaaineet voivat ristireakoida solujen pinta-antigeenien kanssa epiteelisoluissa sekä verihütaaleissa. Tällä voi olla vaikutusta denguekuumeen kehittymiseen.

3. Testiperiaate

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testi on lateraalivirtaukseen perustuva kromatografinen immunomääritys dengueviruksen NS1-antigeenien sekä anti-dengueviruksen IgG:n ja IgM:n kvalitatiiviseen havaitsemiseen ja erottamiseen ihmisen kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytteistä.

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testi sisältää kaksi sisäänrakennettua testiliuskaa (testikasetin vasemmalla puolella: Dengue NS1 Ag Test; testikasetin oikealla puolella: Dengue IgG/IgM Test).

Dengueviruksen NS1-vastaaineet on immobilisoitu membraanin testiviivan alueelle "T". Anti-dengueviruksen IgM ja anti-dengueviruksen IgG ovat immobilisoitu membraanin testiviivojen alueille, jotka on merkitty "IgM" ja "IgG".

Testin aikana näytteessä mahdollisesti olevat dengueviruksen NS1-antigeenit sitoutuvat dengueviruksen NS1-vasta-aineisiin, jotka on konjugoitu väripartikkeleihin ja esipinnoitettu testikasetin konjugaattiviivalle. Jos näytteessä on spesifistä anti-dengueviruksen IgM:ää tai anti-dengueviruksen IgG:tä, ne sitoutuvat väripartikkeleihin konjugoituihin dengueviruksen antigeeneihin, jotka on esipinnoitettu testikasetin konjugaattiviivalle. Seos kulkeutuu sitten membraania pitkin kapillaarisesti ja on vuorovaikutuksessa membraanilla olevien reagenssien kanssa. Tämän jälkeen anti-dengueviruksen NS1 - vasta-aineet sekä anti-dengueviruksen IgM ja anti-dengueviruksen IgG kiinnittävät kompleksit testiviivan alueella "T" sekä "IgM" ja "IgG". Ylimääräiset väripartikkelit kiinnittyvät kontrolliviiva-alueelle "C". Väriviiva testiviivan alueella "T" ja/tai "IgM" ja/tai "IgG" tarkoittaa positiivista tulosta. Väriävän puuttuminen testiviivan alueelta "T" ja/tai "IgM" ja/tai "IgG" tarkoittaa negatiivista tulosta.

Väriävän muodostuminen kullakin kontrolliviiva-alueella "C" toimii toimintakontrollina, joka osoittaa, että asiantuntemainen määrä näytettä on lisätty ja että kalvolle imeytyminen on tapahtunut.

4. Reagenssit ja mukana toimitetut materiaalit

- 10 NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM testikasettia, sis. kertakäyttöiset pipetit (40 µL) dengue NS1 Ag:lle
- 10 kapillaariputkea (10 µL) dengue IgG/IgM:ää varten
- 1 puskuriliuos (buffer) (3 mL)*
- 1 pakkausseloste

*sisältää seuraavan säilöntäaineen: natriumatsidi: <0,1 %. Varoitusmerkintöjä natriumatsidia varten ei vaadita CLP-asetuksen mukaisesti: (EY) N° 1272/2008. Pitoisuudet alittavat poikkeuksen kynnystason 0,1 %.

5. Tarvittavat lisämateriaalit

- Näytteiden keräysastiat (testattavalle näytemateriaalille soveltuvat)
- Sentrifugi (vain seerumi- ja plasmanäytteille)
- Alkoholiappuja
- Lansetteja (vain sormenpästä otettaville kokoverinäytteille)
- Asteini

6. Säilytys ja stabiilius

Testipakkaukset tulee säilyttää 2-30°C lämpötilassa ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Testikasetit säilyvät stabiileina foliopusseihin painettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Testikasetit tulee säilyttää sinetöidyissä foliopusseissaan käyttöön saakka. Älä pakasta testipakkauksia. Älä käytä pakkauksessa ilmoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Testipakkauksen komponentit tulee suojata kontaminaatiolta. Älä käytä testipakkauksen komponentteja, mikäli huomaat merkkejä mikrobikontaminaatiosta tai saostumisesta. Annostelutarvikkeiden, säilytysastioiden tai reagenssien biologinen kontaminoituminen voi johtaa epätarkkoihin tuloksiin.

7. Varoitukset ja varoimet

- Vain ammattimaiseen *in-vitro*-diagnostiseen käyttöön.
- Lue käyttöohjeet huolellisesti ennen testaamista.

- Älä käytä testiä pakkauksessa ilmoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Älä käytä testipakkauksen komponentteja, jos pääpakkaus on vaurioitunut.
- Testit ovat vain kertakäyttöön.
- Älä lisää näytettä reaktioalueelle (tulosalue).
- Kontaminoitumisen välttämiseksi, älä koske reaktioalueeseen (tulosalue).
- Vältä näytteiden ristikontaminaatio käyttämällä aina uutta näytteenottoastiaa jokaiselle näytteelle.
- Älä vaihda tai sekoita eri testipakkausten komponentteja.
- Älä käytä puskuriliuosta, jos se on värjäytynyt tai sameutunut. Värimuutos tai sameus voivat olla merkkejä mikrobikontaminaatiosta.
- Älä syö, juo tai tupakoi alueella, jossa näytteitä ja testipakkauksia käsitellään.
- Käytä suojavarusteita, kuten laboratoriotakkaa, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja käsitellessäsi näytteitä.
- Käsittele kaikkia näytteitä mahdollisina tartuntalähteinä. Noudata mikrobiologiaa vaaroja koskevia varotoimia testaamisen aikana ja noudata asianmukaisia määräyksiä koskien näytteiden hävittämistä.
- Testipakkaus sisältää eläinperäisiä tuotteita. Sertifioitu tieto alkupeirästä ja/tai eläinten terveydentilasta ei täysin takaa tarttuvien taudinaiheuttajien puuttumista. Tuotteita suositellaan täten käsiteltävän mahdollisesti tartuttavina, ja käsittelyssä tulee noudattaa yleisiä varotoimenpiteitä (esim. älä niele tai hengitä).
- Lämpötila voi vaikuttaa haitallisesti testituloksiin.
- Käytetyt testausmateriaalit on hävitettävä paikallisten määräysten mukaisesti.

8. Näytteenotto ja valmistelu

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test voidaan suorittaa käyttäen kokoveria (laskimopistosta tai sormenpästä), seerumia tai plasmaa.

Sormenpästä otettavien kokoverinäytteiden kerääminen:

- Pese potilaan käsi saippualla ja lämpimällä vedellä, tai puhdista käyttäen alkoholilappua. Anna käden kuivua.
- Hiero kättä kohti keskisormen sormenpäätä tai nimetöntä välttäm koskemasta pistokohtaan.
- Lävistä iho käyttäen steriiliä lansettia. Pyyhi ensimmäinen veripisara pois.
- Hiero kättä hellävaraisesti ranteesta kohti kämmettä ja sitten sormea kohti saadaksesi pyöreän veripisaran pistokohtaan.

Sormenpästä otetut kokoverinäytteet tulee testata välittömästi.

Kokoverinäytteet laskimopistosta

Antikoagulantteja, kuten EDTA:ta, natriumsitraattia tai hepariininatriumia, sisältäviä astioita tulee käyttää laskimosta otettavien kokoveri- tai plasmanäytteiden valmisteluun.

Testaus tulee suorittaa heti näytteen keräämisen jälkeen. Älä jätä näytteitä huoneenlämpöön pitkäksi aikaa.

Jos testi on tarkoitus tehdä 24 tunnin kuluessa näytteen ottamisesta, laskimopistolla otettu kokoveri on säilytettävä 2-8 °C:ssa.

Älä pakasta kokoverinäytteitä.

Seerumi- ja plasmanäytteet

Erota seerumi tai plasma verestä mahdollisimman nopeasti hemolyyysin välttämiseksi. Käytä vain kirkkaita, hemolyysoitumattomia näytteitä.

Testaus tulee suorittaa välittömästi näytteen ottamisen jälkeen. Älä jätä näytteitä huoneenlämpöön pitkäksi aikaa. Seerumi- ja plasmanäytteitä voidaan säilyttää 2-8°C:ssa enintään 5 päivän ajan. Pitkäaikaista säilytystä varten näytteet tulee säilyttää -20°C:ssa.

Näytteet on saatettava huoneenlämpöön ennen testausta. Pakastetut näytteet on sulatettava kokonaan ja sekoitettava hyvin ennen testausta. Näytteitä ei saa jäädyttää ja sulattaa uudelleen.

Jos näytteitä on tarkoitus kuljettaa, ne on pakattava kaikkien etiologisten aineiden kuljetusta koskevien säännösten mukaisesti.

Ikteeriset, lipeemiset, hemolyysoituneet, lämpökäsitellyt ja kontaminoituneet näytteet voivat johtaa epätarkkoihin testituloksiin.

9. Testausmenettely

Anna testien, näytteiden, puskuriliuoksen ja/tai kontrollien mukautua huoneenlämpöön (15-30 °C) ennen testausta.

1. Poista testiliuska pakkauksesta ja suorita testi mahdollisimman pian. Parhaat tulokset saadaan, jos testi suoritetaan välittömästi foliopussin avaamisen jälkeen. Merkitse testikasettiin potilaan tai kontrollin tiedot.
2. Aseta testikasetti puhtaalle ja tasaiselle alustalle.

3. a) Denguevirus NS1 Ag

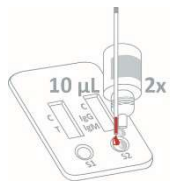
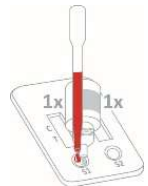
- Pidä pipetti pystysuorassa ja siirrä 1 tippa (noin 30-45 µL) kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytettä testikasetin näyteaukkoon (S1).
 - Pidä puskuriliuospullo pystysuorassa ja lisää 1 tippa (noin 30-40 µL) puskuriliuosta näyteaukkoon (S1).
- Vältä ilmakehiä jäämistä näyteaukkoon (S1), äläkä lisää mitään liuosta tulosalueelle.**

b) Anti-denguevirus IgG/IgM

- Pidä kapillaariputkea pystysuorassa, ota näytettä (kokoveri/seerumi/plasma) täytörajaan asti (noin 10 µL) ja lisää se testikasetin näyteaukkoon (S2).
- Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää mikropipettiä (10 µL).**
- Pidä puskuriliuospulloa pystysuorassa ja lisää 2 tippaa (noin 70 µL) puskuriliuosta näyteaukkoon (S2).
- Vältä ilmakehiä jäämistä näyteaukkoon (S2), äläkä lisää mitään liuosta tulosalueelle.**

4. Käynnistä ajastin.

5. Odota väriviivojen muodostumista. Lue tulokset 15 minuutin kuluttua. Positiivisen tulos saattaa tulla näkyviin jo



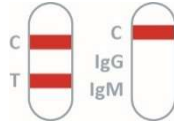
minuutin kuluttua. Älä tulkitse tuloksia enää 20 minuutin jälkeen.

10. Tulosten tulkinta

Positiivinen dengueviruksen NS1 Ag:

Kullekin kontrolliviivan alueelle "C" muodostuu väriviiva. Toinen väriviiva muodostuu testiviivan alueelle "T".

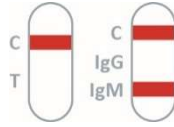
Testitulokset osoittaa dengueviruksen NS1 Ag:n läsnäolon, mikä viittaa varhaiseen, akuuttiin primaari- tai sekundaarirtartuntaan.



Positiivinen anti-denguevirus IgM:

Kullekin kontrolliviivan alueelle "C" muodostuu väriviiva. Toinen väriviiva muodostuu testiviivan alueelle "IgM".

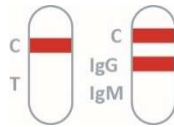
Testitulokset osoittaa anti-dengueviruksen IgM:n läsnäolon, mikä viittaa tuoreeseen primaariseen denguevirusinfektioon.



Positiivinen anti-denguevirus IgG:

Kullekin kontrolliviivan alueelle "C" muodostuu väriviiva. Toinen väriviiva muodostuu testiviivan alueelle "IgG".

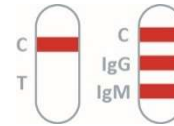
Testitulokset osoittaa anti-dengueviruksen IgG:n läsnäolon, mikä viittaa primääriseen, varhaiseen sekundaariseen tai aikaisemman infektion myöhäiseen vaiheeseen.



Positiivinen anti-denguevirus IgM ja IgG:

Kullekin kontrolliviivan alueelle "C" muodostuu väriviiva. IgM-testiviivan alueelle muodostuu väriviiva ja IgG-testiviivan alueelle muodostuu toinen väriviiva.

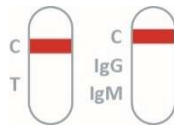
Testitulokset osoittaa anti-dengueviruksen IgM:n ja IgG:n läsnäolon, mikä viittaa nykyiseen primaariseen tai varhaiseen sekundaariseen denguevirusinfektioon.



Huomautus: Värien voimakkuus testiviivan alueilla "T", "IgM" tai "IgG" voi vaihdella riippuen dengueviruksen NS1-antigeenin tai anti-dengueviruksen vasta-aineiden pitoisuudesta näytteessä. Näin ollen mikä tahansa värisävy testiviivan alueella "T", "IgG" tai "IgM" tulee tulkita positiiviseksi. Huomaa, että kyseessä on vain kvalitatiivinen testi, eikä sillä voida määrittää analyysin pitoisuutta näytteessä.

Negatiivinen:

Punainen viiva muodostuu kontrolliviivan alueelle "C". Väriviivoja ei muodostu testiviivojen alueille "T", "IgM" tai "IgG".

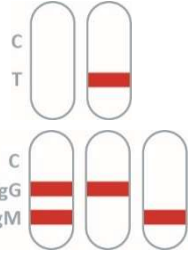


Mitätön:

Kontrolliviiva (C) ei tule näkyviin. Testitulokset, joiden yhteydessä kontrolliviiva ei ole muodostunut ilmoitetun lukuajan puitteissa, tulee hylätä.

Tarkista testausmenettely ja toista testaus uudella testikasetilla. Jos ongelma jatkuu, lopeta testien käyttö välittömästi ja ota yhteyttä jakelijasi.

Riittämätön näytemäärä, virheellinen testin suoritus tapa tai eräntyneet testit ovat yleisimpiä syitä kontrolliviivan epäonnistumiselle.



11. Laadunvarmistus

Testikasetti sisältää sisäänrakennetun toimintakontrollin:

Väriviiva, joka muodostuu jokaiselle kontrolliviivan alueelle (C), on sisäinen positiivinen toimintakontrolli. Se vahvistaa riittävän näytemäärän, oikean suoritusmekaniikan ja asianmukaisen membraanille imeytymisen.

Hyvä laboratoriakäytäntö (GLP) suosittelee käyttämään ulkoisia kontrollimateriaaleja testipakkausten oikeanlaisen toiminnan varmistamiseksi.

12. Rajoitukset

- NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen *in-vitro* -diagnostiseen käyttöön. Testiä tulisi käyttää ainoastaan dengueviruksen NS1-antigeenin sekä anti-dengueviruksen IgG:n ja IgM:n kvalitatiiviseen havaitsemiseen ja erottamiseen ihmisen kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytteistä.
- Dengueviruksen NS1-antigeenin tai anti-dengueviruksen vasta-aineiden pitoisuuden kvantitatiivista arvoa tai nousu/laskunopeutta ei voida määrittää tällä kvalitatiivisella testillä.
- Testin tarkkuus riippuu näytteen laadusta. Epätarkat testitulokset voivat johtua näytteen virheellisestä keräämisestä tai säilytyksestä (ks. kohta 8 "Näytteenotto ja valmistelu").
- Jotkin näytteet, jotka sisältävät epätavallisen korkeita heterofiilisiä vasta-aineita tai reumatekijöitä, voivat vaikuttaa testituloksiin.
- Kuten kaikkien diagnostisten testien kohdalla, lääkärin on tulkittava kaikki tulokset yhdessä muiden saatavilla olevien kliinisten tietojen kanssa.
- NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test havaitsee ainoastaan dengueviruksen NS1-antigeenin ja anti-denguevirus vasta-aineiden läsnäolon näytteissä, eikä sitä pidä käyttää ainoana kriteerinä denguediagnoosin tekemisessä.
- NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testiä ei voida käyttää dengueviruksen serotyyppien määrittämiseen.
- Serologinen ristireaktiivisuus SARS-CoV-2:n kanssa sekä flavivirusten ryhmän (St. Louis enkefaliitti, Länsi-Niilin virus, Japani enkefaliitti ja keltakuumevirukset) kanssa on mahdollista. Positiiviset tulokset tulee vahvistaa muilla menetelmillä. Nämä ristireaktiivisuudet on otettava huomioon rokotuksiin liittyviä päätöksiä tehtäessä.

- Vasta-aineiden jatkuvaa esiintymistä tai puuttumista ei voida käyttää hoidon onnistumisen tai epäonnistumisen määrittämiseen.
- Immunosuppressiopotilaiden tuloksia tulee tulkita huolellisesti.
- Jos testitulos on negatiivinen ja kliiniset oireet jatkuvat, suositellaan lisätestausta muilla kliinisillä menetelmillä, kuten PCR:llä tai ELISA:lla. Negatiivinen tulos ei missään vaiheessa sulje pois hiljattaisen dengueinfektion mahdollisuutta.
- Negatiivinen testitulos dengueviruksen NS1-antigeenin osalta voi tapahtua, jos näytteessä olevien dengueviruksen NS1-antigeenin määrä on alle testin havaitsemisrajan tai jos havaittavia dengueviruksen NS1-antigeneja ei esiintynyt siinä tautivaiheessa, jossa näyte kerättiin. Jotkut potilaat eivät välttämättä tuota havaittavia IgM-vasta-ainetasoja varhaisissa tai toistuissa dengue-infektioissa.
- Havaittavissa olevan dengueviruksen NS1 Ag:n esiintyminen voi merkitä positiivista tulosta varhaisen dengue-infektion osalta.
- Dengueviruksen NS1-antigeenin odotetaan olevan havaittavissa 1 päivä kuumeen alkamisen jälkeen, ja se voi säilyä jopa 9 päivää sekä primaarisissa että sekundaarisissa dengue-infektioissa.

13. Suoritusominaisuudet

Kliininen suorituskyky

Diagnostinen sensitiivisyys ja spesifisyys

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test arvioitiin käyttäen kliinisiä näytteitä, joiden status oli vahvistettu ELISA:lla testikasetin oikean puolen osalta (Dengue IgG/IgM -testi) ja PCR:llä testikasetin vasemman puolen osalta (Dengue NS1 Ag -testi).

Tulokset on esitetty alla olevassa taulukossa:

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgM) vs. ELISA

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgM)	Dengue IgM ELISA		
	Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
	Positiivinen	155	5
Negatiivinen	8	169	177
Yhteensä	163	174	337

Diagnostinen sensitiivisyys: 95,09 % (90,62 % - 97,49 %)*

Diagnostinen spesifisyys: 97,13 % (93,45 % - 98,77 %)*

Kokonaisyhtäpitävyys: 96,14 % (93,51 % - 97,73 %)*

*95% luottamusväli

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgG) vs. ELISA

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (IgG)	Dengue IgG ELISA		
	Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
	Positiivinen	138	7
Negatiivinen	6	167	173
Yhteensä	144	174	318

Diagnostinen sensitiivisyys: 95,83 % (91,21 % - 98,08 %)*

Diagnostinen spesifisyys: 95,98 % (91,93 % - 98,04 %)*

Kokonaisyhtäpitävyys: 95,91 % (93,13 % - 97,60 %)*

*95% luottamusväli

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag) vs. PCR

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Test (NS1 Ag)	PCR		
	Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
	Positiivinen	155	7
Negatiivinen	10	192	202
Yhteensä	165	199	364

Diagnostinen sensitiivisyys: 93,94 % (89,20 % - 96,68 %)*

Diagnostinen spesifisyys: 96,48 % (92,92 % - 98,29 %)*

Kokonaisyhtäpitävyys: 95,33 % (92,65 % - 97,06 %)*

*95% luottamusväli

Analyttinen suorituskyky

Havaitsemisraja

NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testin havaitsemisraja on 50 ng/mL rekombinantia dengueviruksen NS1-antigeenia.

Häiritsevät aineet

Negatiiviset, matalapositiiviset anti-dengueviruksen IgM- ja IgG-seeruminäytteet sekä matalapositiiviset dengueviruksen NS1 Ag -seeruminäytteet, joihin oli lisätty seuraavia mahdollisesti häiritseviä aineita, eivät häirinneet NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testiä.

Aine	Pitoisuus
Albumiini	60 g/L
Parasetamoli (Asetaminofeeni)	0,2 mg/mL
Atropiini	0,2 mg/mL
Asetyylisalisyylihappo	0,2 mg/mL
Askorbiinihappo	0,2 mg/mL
Bilirubiini	0,2 mg/mL
Kreatiini	442 µmol/L
Natriumsitraatti	3,80 %
Kofeiini	0,2 mg/mL
EDTA	3,4 µmol/L
Hemoglobiini	2 g/L
Hepariinatrium	3000 IU/mL
Glukoosi	55 mmol/L
Salisyylihappo	4,34 mmol/L

Ristireaktiivisuus

Negatiiviset, matalapositiiviset anti-dengueviruksen IgM- ja IgG-seeruminäytteet sekä matalapositiiviset dengueviruksen NS1 Ag -seeruminäytteet spiiattiin seuraavilla mahdollisesti ristireagoivilla aineilla ja testattiin NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testillä.

Aine	Pitoisuus
anti-HAV IgM	Positiivinen
HBsAg	Positiivinen
anti-HCV IgM	Positiivinen
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Positiivinen
anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> IgM	Positiivinen
anti- <i>Treponema pallidum</i> IgG	Positiivinen
Reumatekijät (RF)	2500 IU/mL

Ristireaktiivisuutta näytteiden kanssa ei havaittu testattaessa NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testillä.

Tarkkuus

Toistettavuus

Toistettavuus määritettiin testaamalla 20 replikaattia negatiivisista, matala-, keski- ja korkeapositiivisista anti-

dengueviruksen IgM ja IgG -seeruminäytteistä sekä sama määrä negatiivisia, matala-, keski- ja korkeapositiivisia dengueviruksen NS1 Ag -testin seeruminäytteitä käyttäen kolmea NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgG/IgM -testierää. >99 % näytteistä tunnistettiin oikein (20/20 oikeaa testiä konsentraatiota kohti, 95 % luottamusväli: 95,5 % - 100 %). NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testi osoitti hyväksyttävän toistettavuuden.

Uusittavuus

Uusittavuus määritettiin testaamalla 5 replikaattia negatiivisista, matala-, keski- ja korkeapositiivisista anti-dengueviruksen IgM ja IgG -seeruminäytteistä sekä sama määrä negatiivisia, matala-, keski- ja korkeapositiivisia dengueviruksen NS1 Ag -seeruminäytteitä. Testauksen suoritti 5 operaattoria käyttäen kolmea toisistaan riippumatonta NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgG/IgM -testierää kolmessa paikassa viitenä eri päivänä. >99 % näytteistä tunnistettiin oikein (375/375 oikeaa testiä konsentraatiota kohti, 95 % luottamusväli: 99,8 % - 100 %). NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testi osoitti hyväksyttävän toistettavuuden.


14. Vakavien vaaratilanteiden ilmoittaminen











Jos NADAL® Dengue NS1 Ag + IgG/IgM Testin suorittamiseen liittyy vakavia vaaratilanteita, ilmoita niistä välittömästi nal von minden GmbH:lle ja toimivaltaiselle viranomaiselle. Jos se on vielä mahdollista, **älä** hävitä käytettyjä testejä ja testipakkauksen komponentteja.

15. Lähteet

1. Halstead SB, Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world: XI, Dengue. *Rev. Infect. Dis.* 1984; 6:251-264.
2. Halstead SB, Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239:476-481.
3. Ruechusatsawat K, et al. Daily observation of antibody levels among dengue patients detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Japanese J. Trop. Med. Hygiene* 1994; 22: 9-12.
4. Lam SK. Dengue haemorrhagic fever. *Rev. Med. Micro.* 1995; 6:39-48.
5. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization.
6. Yamada K, et al. Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jul; 10(4): 725-8.
7. Dobler G, et al. Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr* (in German). 1997; 147(19-20): 463-4.
8. Makino Y, et al. Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus. *Microbiol Immunol.* 1994; 38(12): 951-5.

Rev. 1, 2023-01-19 OL

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	<i>in-vitro</i> -Diagnostika	<i>in-vitro</i> diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Dispositivo medico-diagnostico <i>in-vitro</i>	Tylko do diagnostyki <i>in-vitro</i>
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Numéro de lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizations	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøyte
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in-vitro</i>	<i>in-vitro</i> - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in-vitro</i> -diagnostik	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	Medicinsk udstyr til <i>in-vitro</i> -diagnostik	<i>in-vitro</i> diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperaturbegränsning	Temperatuurlimiet	Temperaturbegrænsning	Temperaturbegrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merking
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il lingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrækkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel –UK: 0808 234 1237
Free Tel – IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux, Tel: 800 211 16
Lux, Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
Tel, Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries:

Denmark

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 808 887 53

Finland

Tel: +31 703075 606
Free Tel: 0800 918 263
Free Fax: 0800 918 262

Norway

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 800 16 731

Sweden

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 020 79 09 06



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Tel: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1