

## DENGUE Ag

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test immunocromatografico per la determinazione qualitativa dell'antigene del virus Dengue nei campioni di siero, plasma e sangue umano

### I. DESTINAZIONE D'USO

**Dengue Ag** è un test immunocromatografico per la determinazione qualitativa dell'antigene del virus Dengue (Dengue Ag) nei campioni di siero, plasma e sangue umano.

E' da considerarsi un test per uso professionale di screening ed è un aiuto nella diagnosi dell'infezione da virus dengue. Ogni campione che risulta positivo con il Dengue Ag deve essere confermato da altri metodi analitici.

### II. SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il virus Dengue, ad RNA monoelica, appartiene alla famiglia delle Flaviviridae ed esiste in quattro sierotipi differenti (Den 1,2,3,4). Il virus dengue viene trasmesso all'uomo attraverso la puntura della zanzara *Aedes aegypti* (occasionalmente *Aedes albopictus*) appartenenti alla famiglia delle Stegomyia. Oggi, più di 2.5 miliardi di persone vivono nelle aree tropicali dell'Asia, Africa, Australia, e delle Americhe, aree a rischio per l'insorgenza della febbre fino al nono giorno, una volta che la fase clinica della malattia è finita, quindi, permette di avviare tempestivamente il trattamento precoce<sup>4</sup>. Il **Dengue Ag** determina l'antigene dengue virus nel campione in soli 20 minuti. Il test è facile da usare.

Il metodo più comune per la diagnosi dell'infezione da virus dengue è l'indagine sierologica delle IgM. Ultimamente la determinazione di antigeni, rilasciati durante la replicazione del virus nel paziente infetto, ha mostrato risultati molto promettenti; consente diagnosi dal primo giorno dopo l'insorgenza della febbre fino al nono giorno, una volta che la fase clinica della malattia è finita, quindi, permette di avviare tempestivamente il trattamento precoce<sup>4</sup>. Il **Dengue Ag** determina l'antigene dengue virus nel campione in soli 20 minuti. Il test è facile da usare.

### III. PRINCIPIO

Il **Dengue Ag** è un test immunocromatografico a flusso laterale. La striscia test è composta da:

1) Un pad colorato contenente anticorpi monoclonali anti- dengue NS1 antigene coniugato con oro colloidale (Dengue Ab coniugati) e un anticorpo di controllo coniugato con oro colloidale

2) una membrana di nitrocellulosa contenente una banda test T e una banda di controllo (banda C).

Sulla banda T sono fissati gli anticorpi monoclonali anti- dengue NS1 antigene, mentre sulla banda C sono fissati anticorpi di capra anti-topo IgG. Gli anticorpi utilizzati riconoscono gli antigeni di tutti i 4 sierotipi di virus Dengue.

Quando un volume adeguato di campione è dispensato nel pozzetto S della card, il campione migra per capillarità lungo la membrana. Il Dengue NS1 se presenti nel campione si lega al coniugato anti-dengue. L'immunocomplesso viene catturato dai reagenti fissati sulla banda T formando una linea colorata. Il campione è positivo per l'antigene del virus dengue e ciò suggerisce una prima infezione.

L'assenza di colorazione della banda T indica un risultato negativo.

Il test contiene un controllo interno (banda C) dato dalla formazione dell'immunocomplesso tra gli anticorpi di capra anti-topo IgG e il coniugato oro-IgG di topo (monoclonale). Questa banda deve sempre comparire, in caso contrario il risultato non è valido e il test deve essere ripetuto.

### IV. COMPOSIZIONE DEL KIT

1. Ogni kit contiene 10 test devices, ciascuno sigillato in una busta e contenente: una card (cassetta), una pipetta di plastica e un essiccante.
2. Diluente del campione (1 flacone da 1,5 mL)
3. Istruzioni per l'uso.

### V. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico *in vitro* e solo per uso professionale.
2. Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di effettuare il test. L'uso improprio del kit può fornire dei risultati non accurati.
3. Aprire la busta sigillata solo poco prima di effettuare il test.
4. Non usare se il prodotto è scaduto.
5. Lasciare condizionare i reagenti a temperatura ambiente (15°C-30°C) prima dell'uso.
6. Non usare i componenti di questo kit con altri test.
7. Non usare sangue emolizzato per il test.
8. Usare indumenti protettivi e guanti monouso durante la manipolazione dei reagenti e dei campioni clinici. Lavare le mani dopo aver effettuato il test.
9. Gli utilizzatori di questo kit devono considerare i campioni come potenzialmente infettivi e trattarli con le dovute precauzioni per prevenire la trasmissione di HIV, HBV e altri patogeni per via ematica.
10. Non fumare, bere o mangiare durante la manipolazione.
11. Considerare i campioni e i materiali usati come rifiuti speciali.
12. I risultati del test devono essere letti entro 15 minuti dopo la dispensazione del campione. La lettura oltre il 15° minuto può fornire dei risultati non corretti.
13. Non effettuare il test in ambienti con forti spostamenti d'aria, per esempio vicino a ventilatori o a bocchette di aria condizionata.

### VII. PREPARAZIONE DEI REAGENTI E CONSERVAZIONE

Tutti i reagenti sono pronti all'uso. Conservare i reagenti chiusi a 2°C-30°C. Se conservati a 2°C-8°C, assicurarsi che i componenti raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso. Il dispositivo è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla busta. Non congelare o esporre il kit a temperature superiori a 30°C.

### VIII. RACCOLTA DEI CAMPIONI E MANIPOLAZIONE

Considerare tutti i materiali di origine umana come potenzialmente infettivi, usare tutte le dovute precauzioni.

#### Plasma

- 1) Raccogliere i campioni di sangue in provette con tappo blu o verde (contenenti EDTA, citrato o eparina in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
- 2) Separare il plasma per centrifugazione.
- 3) Trasferire il plasma in un'altra provetta contrassegnata.

#### Siero

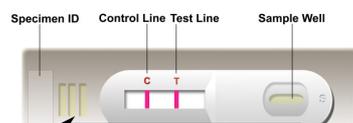
- 1) Raccogliere i campioni di sangue in una provetta con tappo rosso (senza anticoagulanti in Vacutainer®) attraverso puntura venosa e attendere che il sangue coaguli
- 2) Separare il siero per centrifugazione.
- 3) Trasferire il siero in un'altra provetta contrassegnata

#### Sangue intero

Gocce di sangue intero si possono ottenere dalle dita o prelievo. Non utilizzare sangue emolizzato per il test

Testare i campioni il prima possibile. Conservare i campioni a 2°C-8°C se non testati immediatamente per un massimo di 5 giorni. Per un periodo più prolungato conservarli congelati a -20°C. Evitare continui congelamenti e scongelamenti.

Prima di effettuare il test, scongelare e portare a temperatura ambiente lentamente i campioni, agitandoli delicatamente. I campioni che contengono materiale corpuscolare devono essere centrifugati. **Non usare campioni troppo lipemici, fortemente emolizzati o torbidi per evitare interferenze nell'interpretazione dei risultati.**



### IX. PROCEDIMENTO

- Step 1: Lasciare che i campioni e i reagenti refrigerati raggiungano temperatura ambiente. Miscelare bene i campioni prima di usarli.  
 Step 2: Aprire la busta ed estrarre la card. Metterla su una superficie piana e pulita. Identificarla con il numero del campione.  
 Step 3: Riempire la pipetta con il campione.  
 Tenendo la pipetta in posizione verticale, dispensare 1 goccia (circa 30-45 µL) di plasma/siero o 2 gocce (circa 60-90 µL) di sangue intero nel pozzetto S evitando la formazione di bolle d'aria.  
 Aggiungere immediatamente 1 goccia (circa 35-50 µL) di Diluente del campione.

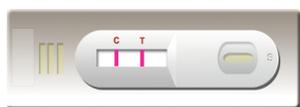


- goccia di campione      1 goccia di Diluente del campione      20 minuti
- Step 5: Far partire il cronometro.  
 Step 6: Il risultato è leggibile entro 20 minuti. I risultati positivi potrebbero essere visibili anche entro 1 minuto.  
**Non leggere oltre i 25 minuti. Per evitare confusione gettare i test subito dopo la loro interpretazione.**

### X. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



**NEGATIVO:** formazione della sola banda di controllo C. L'assenza di colorazione della banda T nel campione, indica che non sono stati trovati livelli di Dengue misurabili. Il risultato è negativo.



**POSITIVO:** in aggiunta alla banda C si ha colorazione della banda T, indica la presenza dell' antigene dengue virus; Il risultato è positivo

*I campioni che risultano positivi dovrebbero essere confermati da metodi alternativi e dati clinici prima della diagnosi definitiva.*



**NON VALIDO:** se non compare la banda di controllo (C) il test non è valido, indipendentemente dalla presenza della banda test (T), come illustrato di seguito. Ripetere il test con una nuova card.

### XI. CARATTERISTICHE FUNZIONALI

#### Dati clinici per IgM

Sono stati confrontati 114 campioni di soggetti sensibili, utilizzando il **Dengue Ag** e un test Commerciale EIA. I risultati sono raccolti nella seguente tabella:

test Commerciale EIA	Dengue Ag		Totale
	Positivo	Negativo	
<b>Positivo</b>	66	3	60
<b>Negativo</b>	2	43	45
<b>Totale</b>	68	46	114

Sensibilità relativa: 95.6% , Specificità relativa: 95.5%, Accuratezza 95.6%

#### Reattività Crociata

Sono stati testati sieri di pazienti con malattie infettive per valutare la reattività. Campioni positivi per HbsAg, HAV, HCV, Sifilide, TB, H.pylori sono risultati negativi nel test Dengue

### XII. LIMITI

- Il test DENGUE Ag si limita a fornire un dato qualitativo della presenza di antigene dengue nel campione analizzato. L'intensità della banda non presenta una correlazione lineare con la concentrazione di antigene nel campione.
- Un risultato negativo non preclude la possibilità di esposizione o di infezione con il virus dengue.
- Se la quantità di antigene nel campione è inferiore al cut-off o se non è presente durante la fase della malattia in cui viene effettuato il prelievo, è possibile avere un risultato negativo.
- Alcuni campioni contenenti alti titoli di anticorpi eterofili o fattore reumatoide possono influenzare il risultato del test.
- Se i sintomi persistono ed il risultato del test è negativo, si consiglia di prelevare un nuovo campione dopo pochi giorni o di testare il campione con un metodo alternativo come PCR o metodi ELISA.
- I risultati ottenuti con questo test devono essere confrontati ad altri test diagnostici e con i dati clinici.

### XIII. BIBLIOGRAFIA

- Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. *Emerg Infect Dis* 1995;1(2):55-57.
- Gubler DJ, Trent DW. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infect Agents Dis* 1994;2:383-393
- Monath TP. Dengue: The risk to developed and developing countries. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:2395-2400.
- Price DD, Wilson SR, Dengue Fever, e-medicine. <http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm>, Jan, 2002.
- Innis BL, and Nisalak A, et al: An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where denude and Japanese encephalitis co-circulate. *Am. J. Trop. Med. Hygiene.* 1989; 40: 418-427.
- Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997

	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (EXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

### CONTENUTO

Dispositivo su Card (cassetta)  
 N.1 flacone con Diluente Campione  
 Istruzioni per l'uso

### Cod. VQ84005 (10 test)

10 pz  
 1,5 mL  
 1 pezzo

