



بخش آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی  
(آزمایشگاه مرجع کشوری)

## دستورالعمل (Bioline™ DENGUE DUO (DENGUE NS1 Ag + IgG/IgM)

### ۱- درباره کیت

کیت Bioline Dengue Duo یک روش تشخیص سریع ایمونوکروماتوگرافیک برای تشخیص اولیه عفونت ویروس دنگی (Dengue) با استفاده از شناسایی همزمان آنتی ژن NS1 ویروس دنگی و آنتی بادی های IgM و IgG بر علیه آن می باشد. به طور معمول در عفونت اولیه ویروس دنگی (Primary infection) آنتی ژن NS1 از ابتدای بیماری تا روز ۹ بعد از بروز علائم، در نمونه خون، سرم و پلاسما قابل شناسایی است. همچنین آنتی بادی IgM از روز ۵ بعد از بروز علائم در نمونه خون، سرم و پلاسما قابل شناسایی است و تا چندین ماه پایدار باقی می ماند. آنتی بادی IgG از هفته دوم بیماری در خون، سرم و پلاسما قابل ردیابی است و تا آخر عمر پایدار باقی می ماند. در عفونت های ثانویه (Secondary infection) آنتی بادی IgM پس از روز ۲۰ عفونت قابل ردیابی باشد، درحالیکه IgG از روز ۱ یا ۲ بعد از شروع علائم قابل شناسایی است. الگوی شناسایی آنتی ژن NS1 در عفونت های ثانویه و اولیه یکسان است.

### ۲- کاربرد

کیت Bioline Dengue Duo برای شناسایی اولیه (Presumptive diagnosis) عفونت ویروس دنگی (هر ۴ سروتایپ) در نمونه های انسانی خون کامل، یا سرم یا پلاسما می باشد. نتایج حاصل از این کیت باید به عنوان تشخیص اولیه قلمداد گردد و تشخیص قطعی می بایست از طریق تست های PCR و سرولوژیک انجام شود. استفاده از این کیت محدود به کارکنان آموزش دیده می باشد و برای استفاده عموم توصیه نمی شود.

### ۳- محتویات کیت

Component	Cat. No. 11FK45	Cat. No. 11FK46
Dengue NS1 Ag and Dengue IgG/IgM combo device	10	25
Assay diluent for Dengue IgM/IgG test	1*3ml	1*5ml
Capillary pipettes for Dengue IgM/IgG test (10 µl)	10	25
Disposable droppers for NS1 Ag test	10	25
Instruction	1	1

### ۴- شرایط نگهداری

کیت Bioline Dengue Duo باید در در دمای ۱ الی ۳۰ درجه سانتی گراد و به دور از رطوبت، گرمای زیاد نگهداری شود و از فریز کردن کیت پرهیز شود. بلافاصله پس از خارج کردن کاست کیت از پوشش آن باید تست انجام شود.

### ۵- نمونه گیری

نمونه های مناسب برای کیت Bioline Dengue Duo عبارتند از : خون کامل، سرم و پلاسمای انسانی.



بخش آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی  
(آزمایشگاه مرجع کشوری)

### ۵-۱- خون کامل

از خون وریدی تهیه شده در ضد انعقاد EDTA یا هپارین یا سدیم سیترات می توان استفاده نمود. با توجه به اینکه خون تهیه شده ممکن است برای آزمایشات مولکولی نیز به کار گرفته شود توصیه می گردد ضد انعقاد EDTA استفاده شود. توصیه می شود در اسرع وقت بعد از نمونه گیری تست انجام شود، با این وجود نمونه خون تهیه شده را میتوان قبل از انجام تست در صورت نیاز تا حداکثر ۳ روز در شرایط دمایی ۲-۸ درجه سانتی گراد نگهداری نمود. در زمان انجام تست باید دمای نمونه ها بین ۱۵-۳۰ درجه سانتی گراد (دمای اتاق) باشد.

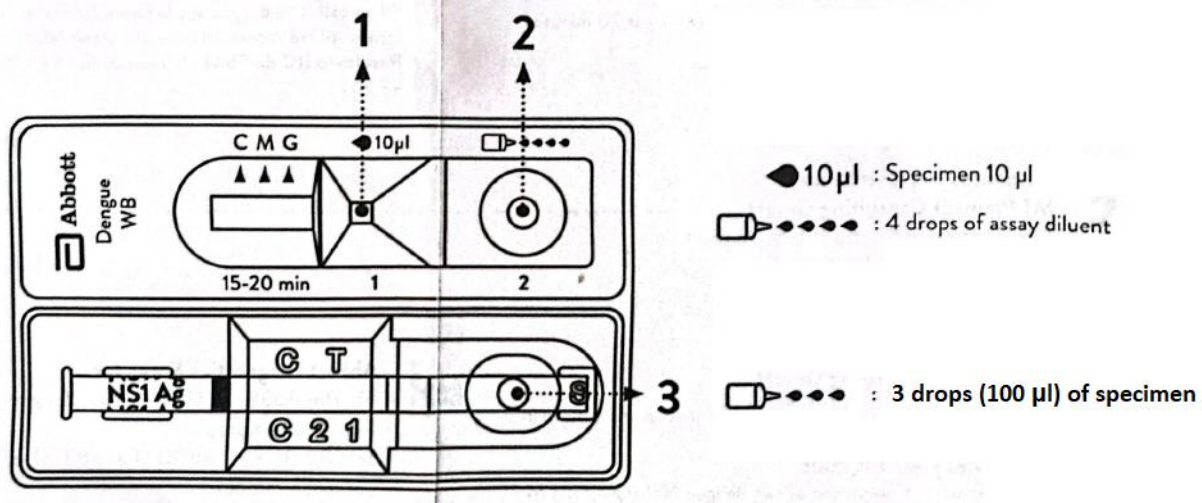
### ۵-۲- سرم / پلاسما

برای تهیه پلاسما فقط از ضد انعقاد EDTA یا هپارین یا سدیم سیترات می توان استفاده نمود. نمونه های سرم و پلاسما را میتوان قبل از انجام تست در صورت نیاز تا حداکثر ۲ هفته در شرایط دمایی ۲-۸ درجه سانتی گراد و برای مدت طولانی تر در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری نمود. در زمان انجام تست باید دمای نمونه ها بین ۱۵-۳۰ درجه سانتی گراد (دمای اتاق) باشد. از فریز-ذوب کردن مکرر نمونه پرهیز شود. توصیه می شود نمونه سرم و پلاسما شفاف باشد. کدورت نمونه ممکن است بر روی نتیجه آزمایش تاثیر داشته باشد.

### ۶- انجام تست

- ۶-۱- محتویات کیت در دمای بین ۱۵-۳۰ درجه سانتی گراد (دمای اتاق) باشد.
- ۶-۲- بلافاصله پس از خروج کاست از پوشش خود باید تست انجام شود.
- ۶-۳- بر روی کاست تاریخ انجام تست و کد بیمار قید شود.
- ۶-۴- برای NS1، با استفاده از قطره چکان کیت به میزان ۱۰۰ میکرولیتر (۳ قطره) از نمونه (خون/سرم/پلاسما) در حفره نمونه (specimen) اضافه شود (شکل ۱ پایین).
- ۶-۵- برای IgG/IgM، با استفاده از capillary pipette کیت، به میزان ۱۰ میکرولیتر از نمونه (خون/سرم/پلاسما) در حفره مربع شکل نمونه (specimen) اضافه شود و سپس ۴ قطره (۹۰-۱۲۰ میکرولیتر) از رقیق کننده (diluent) به حفره گرد رقیق کننده اضافه شود (شکل ۱ بالا).
- ۶-۶- پس از ۱۵ الی ۲۰ دقیقه نتیجه تست قرائت شود. توجه شود حداکثر زمان بررسی نتایج ۲۰ دقیقه بوده و خوانش نتایج پس از ۲۰ دقیقه قابل اعتماد نمی باشد.

بخش آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی  
(آزمایشگاه مرجع کشوری)

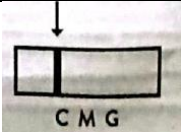
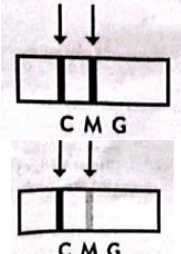
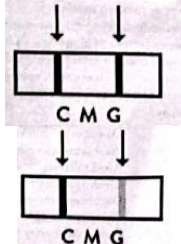
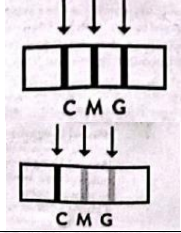
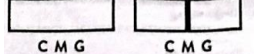
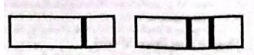
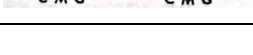



شکل ۱. نمای کاست تست، میزان نمونه و محل اضافه کردن آن برای IgM/G (بالا) و NS1 (پایین).

#### ۷- تفسیر نتایج

Target	Schematic view	Control line	NS1 line	Results	Further actions
NS1		+	-	NS1 not detected	-
		+	+	NS1 detected (Early Dengue)	Perform PCR or NS1 ELISA
		+	+	NS1 detected (Early Dengue)	Perform PCR or NS1 ELISA
		-	-	Invalid	Re-test
		-	+	Invalid	Re-test

بخش آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی  
(آزمایشگاه مرجع کشوری)

Target	Schematic view	Control line	IgM line	IgG line	Results	Further actions
IgM/IgG		+	-	-	IgM/G not detected	Re-test in 3-5 days in Dengue is suspected
		+	+	-	IgM positive (Primary Dengue)	Perform ELISA
		+	-	+	IgG detected (secondary/past Dengue)	Perform ELISA
		+	+	+	IgM/IgG detected (Late primary or early secondary Dengue)	Perform ELISA
		-	-	-	Invalid	Re-test
		-	+	-	Invalid	Re-test
		-	-	+	Invalid	Re-test
		-	+	+	Invalid	Re-test

- Sensitivity : 92.4% (Dengue NS1 Ag), 94.2% (Dengue IgG/IgM)



بخش آربوویروس ها و تب های خونریزی دهنده ویروسی  
(آزمایشگاه مرجع کشوری)

- Specificity : 98.4%(Dengue NS1 Ag), 96.4% (Dengue IgG/IgM)

#### ۹- محدودیت ها

- ۱-۹- در برخی از بیماران آنتی بادی ضد NS1 تولید می شود که در این صورت امکان منفی شدن NS1 دارد.
- ۲-۹- نتایج آزمایش وابسته به زمان نمونه گیری می باشد و نتیجه منفی نمی تواند به طور کامل رد کننده وجود عفونت ویروس Dengue باشد.
- ۳-۹- به علت تشابه آنتی ژنی بین ویروس ها جنس *Flavivirus* از جمله Dengue, West Nile, Japanese Encephalitis, Yellow Fever و Zika امکان نتایج مثبت کاذب وجود دارد.

#### ۱۰- منابع

##### 1- Instructions for use Bioline™ DENGUE DUO (DENGUE NS1 Ag + IgG/IgM)

برای مشاهده ویدیو معرفی کیت و نحوه انجام کیت از لینک زیر استفاده کنید.

<https://www.globalpointofcare.abbott/ww/en/product-details/bioline-dengue-duo-ns1-ag-ab-combo.html>