

راهنمای انجام آزمایش تشخیص سریع بیماری دانگ

careUS™ Dengue Combo NS1 & IgM/IgG

تهیه شده توسط

گروه بیماریهای واگیر

معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

زیر نظر

اداره کنترل بیماریهای منتقله از ناقلین مرکز مدیریت بیماریهای واگیر

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی



موارد کاربرد کیت Dengue Combo NSI & IgM/IgG

برای تشخیص کیفی سریع بیماری دانگ از کیت تشخیص سریع استفاده می شود.

از کیت برای تشخیص آنتی ژن NS1 و/یا آنتی بادی های IgM و/یا IgG ویروس دانگ در نمونه سرم، پلاسما و خون کامل در جهت کمک به تشخیص عفونت تب هموراژیک (خونریزی دهنده) ویروس دانگ استفاده می شود.

مقدمه

- * تب دانگ (DF) یا تب هموراژیک دانگ (خونریزی دهنده) (DHF) از بیماریهای شایع در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است. بر اساس اطلاعات سازمان جهانی بهداشت ۲/۵ میلیارد نفر و به عبارتی 40% جمعیت جهان در معرض خطر ابتلا به بیماری دانگ هستند.
- * بیماری دانگ توسط یکی از چهار گونه ویروس دانگ (DN-1, DN-2, DN-3, & DN-4) که از نظر آنتی-ژن مشخص هستند و متعلق به گونه فلاوی ویروس می باشند، ایجاد می شود.
- * چهارگونه متفاوت ویروس دانگ از طریق گزش پشه منتقل می شوند، به ویژه از گونه های آئدس اجیپتی (*Aedes aegypti*) یا آئدس آلبوپیکتوس (*Aedes albopictus*).
- * عفونت ویروس دانگ طیفی از بیماریهای بالینی را ایجاد می کند که از یک سندرم ویروسی غیر اختصاصی تا بیماری هموراژیک (خونریزی دهنده) شدید و کشنده را شامل می شود.

- ✱ **careUS™ Dengue Combo NS1 & IgM/IgG** یک کیت تشخیص سریع است که به شکل ترکیبی (Combo) شامل نوار آزمایش آنتی-ژن NS1 و نوار آزمایش آنتی-بادی-IgM/IgG (anti-dengue) می‌باشد.
- ✱ آزمایش دانگ NS1 قادر به تشخیص آنتی-ژن NS1 دانگ در نمونه آزمایش می‌باشد. آنتی-ژن دانگ NS1 در یک نمونه آزمایش با آنتی بادی آنتی-دنگی NS1 (anti-dengue) درهم آمیخته با ذره طلا و جذب آنتی بادی آنتی-دانگ (anti-dengue) واکنش نشان می‌دهد.
- ✱ آزمایش دانگ IgM/IgG قادر به تشخیص آنتی بادی های (IgM و یا IgG) و ویروس دانگ در نمونه آزمایش می‌باشد.
- ✱ آزمایش دانگ IgM/IgG روی یک نمونه آزمایش با آنتی-ژن های از نو ادغام شده ویروس دانگ درهم آمیخته با ذره طلا و آنتی بادی (anti-human) IgM و یا آنتی بادی (anti-human) IgG که روی غشاء تثبیت شده واکنش نشان می‌دهد.
- ✱ کیت تشخیص سریع **careUS™** برای تشخیص عفونت دانگ از مرحله حاد تا دوران نقاهت طراحی شده است.



Dengue Combo NS1 & IgM/IgG
کیت تشخیص سریع تب دانگ

محتویات محصول

- ترکیب کیت دانگ **careUS™** شامل NS1 و IgM/IgG موارد زیر می شود.
۱. دستگاه تست (بسته بندی شده در پاکت آلومینیومی به همراه یک رطوبت گیر)
 ۲. بافر سنجش (محلول آزمایش) مایع حلال بافر کربنات
 ۳. تجهیزات جانبی

۱. قطره چکان مویرگی یکبار مصرف برای آزمایش (NS1)

80 میکرولیتر از نمونه **کامل خون**

60 میکرولیتر از نمونه **سرم یا پلاسما**



۲. قطره چکان مویرگی یکبار مصرف برای آزمایش (IgM/IgG)

20 میکرولیتر از نمونه **کامل خون**

10 میکرولیتر از نمونه **سرم یا پلاسما**



لوازم مورد نیاز که در کیت موجود نیست



۱. دستکش یکبار مصرف
۲. زمان سنج
۳. سطل زباله برای اشیاء تیز
۴. مداد یا خودکار
۵. پارچه یا گاز استریل

Dengue Combo NSI & IgM/IgG

کیت تشخیص سریع تب دانگ

ناحیه معرف تست

ناحیه ظاهر شدن باند **NSI**

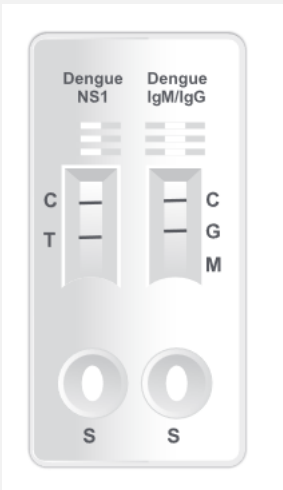
چاهکهای نمونه خون یا پلاسما



ناحیه ظاهر شدن باند **IgM/IgG**

مراحل آماده سازی کیت

از ویژگی کیت تشخیص سریع ترکیبی **careUS™ Dengue Combo** این است که هر دو آزمایش **NS1** و **IgM/IgG** دانگ با یک دستگاه کیت قابل تشخیص است.



1. دستگاه تست را از پاکت آلومینیومی خارج و بلافاصله استفاده کنید.
2. دستگاه تست را روی یک صفحه تمیز و صاف قرار دهید.

مراحل انجام آزمایش NS1

آزمایش بیماری دانگ NS1:

3. با استفاده از قطره چکان یکبار مصرف معمولی (یا میکروسکوپی) به میزان **60** میکرو لیتر (تا خط سیاه **پایین** قطره چکان) از **سرم** یا **پلاسمای خون** و یا **80** میکرو لیتر (تا خط سیاه **بالای** قطره چکان) از **نمونه کامل خون** را داخل قسمت حفره نمونه دستگاه بریزید.

4. یک قطره کامل (35 میکرو لیتر) از محلول بافر در درون حاک نمونه بریزید.

5. سپس زمان سنج را فعال کنید.

1 Dengue NS1 Test



Add the blood sample into the sample well(S)
Plasma/Serum : 60 µl plasma
Whole blood : 80 µl



Sequentially, add 1 drop
(about 35ul) of assay buffer
into the sample well(S).

مراحل انجام آزمایش IgM/IgG

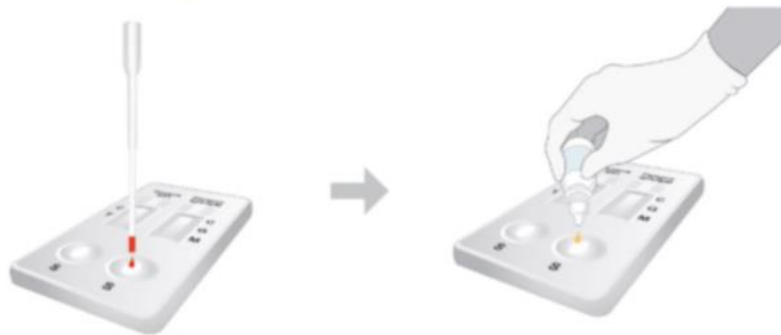
آزمایش بیماری دانگ: IgM/IgG

3. با استفاده از قطره چکان مویرگی (یا میکروسکوپی) به میزان **10** میکرولیتر (تا خط سیاه **پایین** قطره چکان مویرگی) از **سرم یا پلاسما** **خون** و یا **20** میکرولیتر (تا خط سیاه **بالای** قطره چکان مویرگی) از **نمونه کامل خون** را داخل قسمت حفره نمونه دستگاه بریزید.

4. یک قطره کامل (35 میکرولیتر) از محلول سنجش بیافزاید.

5. سپس زمان سنج را فعال کنید.

2 Dengue IgM/IgG Test

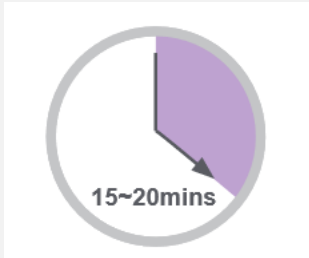


Add the blood sample into the sample well(S)
Plasma/Serum : 10 µl plasma
Whole blood : 20 µl

Sequentially, add 1 drop (about 35ul) of assay buffer into the sample well(S).

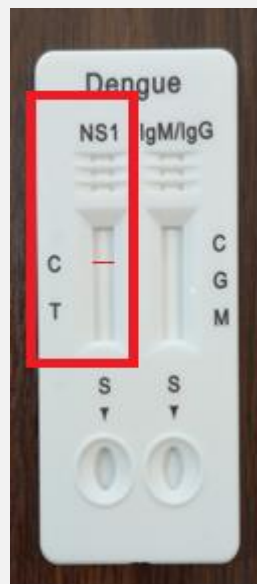
مدت زمان برای مشخص شدن نتیجه آزمایش

آزمایش بیماری دانگ: IgM/IgG

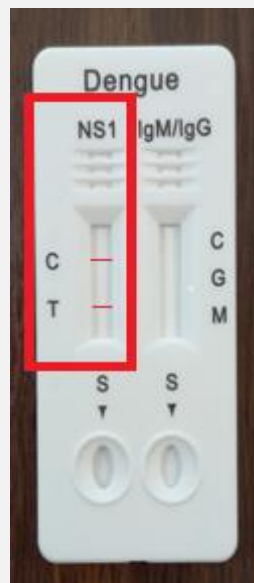


6. جواب آزمایش در مدت 15 - 20 دقیقه قابل روئیت می باشد.

شرح نتیجه آزمایش



منفی (Negative)

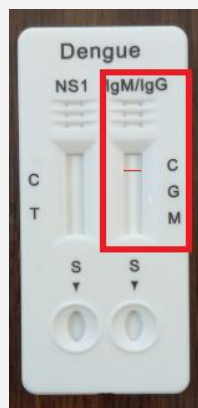


مثبت (positive)

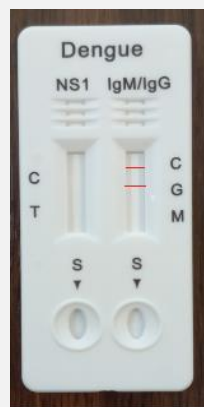
آزمایش بیماری دانگ: NS1

توجه: شدت رنگ خط آزمایش با توجه به میزان غلظت آنتی-ژن دانگ NS1 موجود در نمونه آزمایش متفاوت خواهد بود. با این حال نه میزان کمی و نه نرخ افزایش در آنتی-ژن دانگ NS1 با این آزمایش کیفی قابل تعیین نخواهد بود.

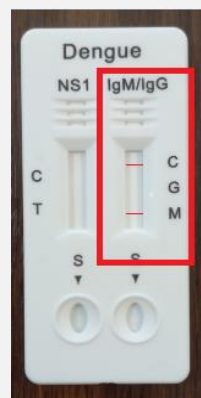
آزمایش بیماری دانگ : (IgM/IgG)



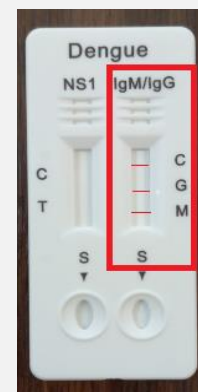
منفی (Negative)



مثبت (positive IgG)



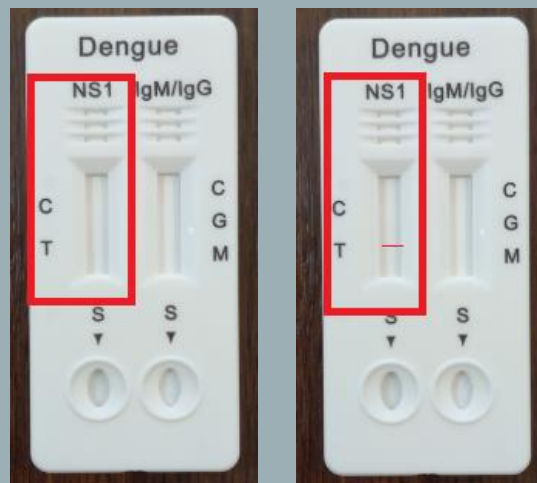
مثبت (positive IgM)



مثبت (positive IgM and IgG)

توجه: شدت رنگ خط آزمایش با توجه به میزان غلظت آنتی بادی (پادتن) آنتی-دانگ موجود در نمونه آزمایش متفاوت خواهد بود. با این حال نه میزان کمی و نه نرخ افزایش در آنتی بادی (پادتن) آنتی-دانگ با این آزمایش کیفی قابل **تعیین نخواهد بود.**

آزمایش بیماری دانگ : NS1 نامعتبر

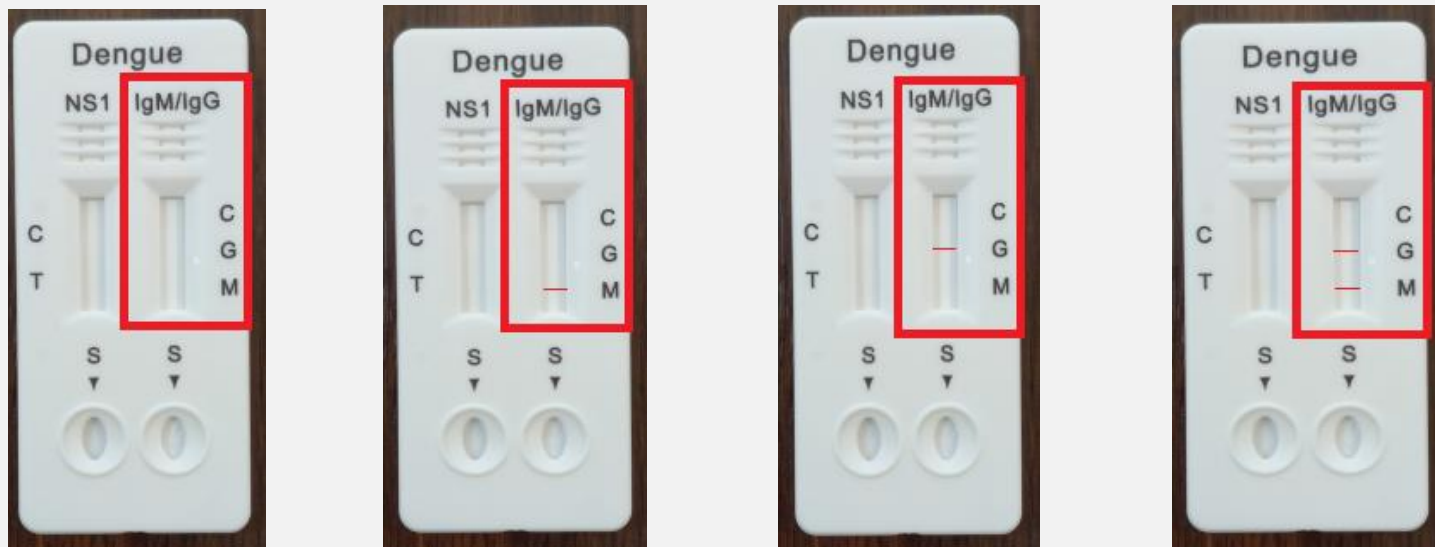


INVALID (نامعتبر)

نامعتبر: اگر خط کنترل C قادر به نمایش نباشد جواب آزمایش معتبر نخواهد بود. مقدار نامناسب نمونه آزمایش یا روند فنی غلط آزمایش از شایع‌ترین دلایل ظاهر نشدن خط کنترل C و در نتیجه معتبر نبودن آزمایش می‌باشد.

بنابراین می‌بایست روند آزمایش بازبینی و مجدد با دستگاه تست جدید آزمایش صورت گیرد.

آزمایش بیماری دانگ: IgM/IgG نامعتبر



نامعتبر: اگر خط کنترل C قادر به نمایش نباشد جواب آزمایش معتبر نخواهد بود. مقدار نامناسب نمونه آزمایش یا روند فنی غلط آزمایش از شایع‌ترین دلایل ظاهر نشدن خط کنترل C و در نتیجه معتبر نبودن آزمایش می‌باشد. بنابراین می‌بایست روند آزمایش بازبینی و مجدد با **دستگاه تست جدید** آزمایش صورت گیرد.

محدودیت ها

۱. هنگام استفاده از سرم یا پلاسما، برای جلوگیری از همولیز، بلافاصله سرم یا پلاسما را از خون کامل جدا کنید.
 - فقط نمونه های شفاف و غیر همولیز قابل استفاده می باشد.
۲. آزمایش باید بلافاصله پس از جمع آوری نمونه ها انجام شود.
 - نمونه ها را برای مدت طولانی در دمای اتاق قرار ندهید.
 - سرم یا پلاسما را می توان تا ۳ روز در دمای ۲ الی ۸ درجه سانتیگراد نگهداری کرد.
 - برای نگهداری طولانی مدت، نمونه ها باید زیر دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شوند.

۳. قبل از آزمایش، نمونه ها را در دمای اتاق قرار دهید.

- نمونه های منجمد می بایست قبل از آزمایش کاملاً ذوب شده و به خوبی مخلوط شوند.
- نمونه ها نباید به طور مکرر منجمد و ذوب شوند.

۴. اگر قرار است نمونه ها به مکان دیگری ارسال شوند، باید طبق مقررات حمل و نقل مواد بیولوژیک آلوده بسته بندی و حمل گردند.

۵. تشخیص بالینی قطعی نباید بر اساس نتیجه این آزمایش انجام شود، بلکه نتیجه باید پس از انجام تمام معاینات بالینی توسط پزشک متخصص و یافته های آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گیرد.

هشدارها و اقدامات احتیاطی

۱. کیت های تست فقط برای استفاده در تشخیص آزمایشگاهی و حرفه ای هستند.

۲. قبل از استفاده از کیت تست، دستورالعمل های ارائه شده برای استفاده را بخوانید.

۳. در حین استفاده از کیت های تست، همیشه دستکش های محافظ را بپوشید و بلافاصله پس از آزمایش دستکش ها را دور بیندازید.

۴. هنگام استفاده از کیت تست، غذا نخورید یا سیگار نکشید.

۵. تمام اقلام ارائه شده یکبار مصرف هستند. از هیچ یک از مواد دوباره استفاده نکنید.

۶. از اقلام کالاهای متفاوت استفاده نکنید.

۷. اشتباهات محلول بافر سنجش را نخورید.

۸. کیت تست همانگونه که در بسته بندی در کیسه پلمپ شده قرار دارد در **دمای ۱ الی ۳۰ درجه** سانتیگراد نگهداری

و از فریز کردن کیت تست خودداری شود. ابزارهای تست که در یخچال نگهداری می شوند می بایست **قبل از استفاده**

با دمای اتاق متعادل شوند.

تشخیص آنتی ژن بیماری دانگ: NSI

حساسیت:

از ۱۱۶ نمونه بیماری دانگ، NS1 مثبت تایید شده توسط آزمایش NS1-captured ELISA،

NS1 این کیت قادر به شناسایی ۱۱۰ (94.8%) نمونه مثبت بوده که نتیجه ای معادل RDT (% 94.8) تجاری را نشان می دهد.

ویژگی:

از ۱۰۰ نمونه بیماری دانگ، NS1 منفی تایید شده توسط آزمایش "NS1-captured

ELISA"، هر دو روش "کیت تشخیص دانگ NS1 (این کیت)" و "RDT تجاری" ویژگی

تشخیص بیماری دانگ: IgM/IgG

حساسیت:

از ۱۶۹ نمونه دانگ IgM/IgG مثبت تایید شده توسط تجزیه و تحلیل وسترن بلات، «IgM/IgG» این کیت تعداد ۱۶۵ نمونه را مثبت تشخیص داد که نشان دهنده حساسیت ۹۷.۶٪ این روش می‌باشد.

ویژگی:

از ۱۶۱ نمونه دنگی IgM/IgG منفی تایید شده توسط تجزیه و تحلیل وسترن بلات، IgM/IgG این کیت تعداد ۱۵۵ نمونه را منفی نشان داد که میزان دقت ۹۶.۳٪ را نشان می‌دهد.

تداخلات

بدون تداخل:

چهارده ماده زیر با نتایج این کیت "IgM/IgG و NS1" تداخلی نداشتند:
استامینوفن، اسید استیل سالیسیلیک، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، اسید اسکوربیک، بیلی روبین، کافئین، کلرومفنیکل، کلرومفنیکول، کلروموتروفن، هلموتروفن، و هروترفنیک اسید، هلموگلوبینیک اسید، اسید استیل سالیسیلیک، تری گلیسیرید.

واکنش متقابل:

این کیت "IgM/IgG و NS1" با گونه های ویروسی یا آنتی ژن های بیماری های منتقله از طریق پشه زیر واکنش نشان نداد: ویروس نیل غربی، ویروس تب زرد، ویروس O'nyung-nyung، ویروس La crosse، ویروس سرخک، آنفلوانزا A هنگ کنگ (H1N1)، آنفلوانزای B (سویه جیانگ سو)، پلاسمودیوم فالسیپاروم، و پلاسمودیوم ویواکس.