



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,977S B2)

**A Rapid Immunoassay for the Detection of Respiratory Syncytial Virus (RSV) Antigens
in Nasal Wash, Nasopharyngeal Aspirate, Nasopharyngeal Swab and Nasal Swab Samples**

REF 751330

IVD

Rx Only

INTENDED USE

Tru RSV is a rapid, qualitative, lateral-flow immunoassay for the detection of Respiratory Syncytial Virus (RSV) antigens (fusion protein or nucleoprotein^{1,2}) in human nasal wash, nasopharyngeal aspirate, and nasal and nasopharyngeal swab samples. It is designed to be used by clinical laboratories to test specimens from symptomatic patients aged five years or less. A negative result does not preclude RSV infection. It is recommended that all negative test results be confirmed by cell culture. The results of this test are used in combination with other clinical tests and the patients' conditions to diagnose RSV-associated infections.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Respiratory Syncytial Virus (RSV) is the most important cause of pneumonia and bronchiolitis in infants and small children. Approximately 90,000 children are hospitalized each year due to RSV in the USA alone.³ Hospitalization due to RSV is more frequently associated with children that have underlying disease or premature birth.⁴ Mortality rates are estimated to be between 1 and 3% for children that are hospitalized with RSV.³ RSV is also being recognized more frequently as a cause of significant respiratory disease in the elderly.⁵ RSV causes a wide range of respiratory symptoms that can be difficult to distinguish clinically from symptoms caused by other respiratory viruses such as influenza.³ Because of its high infectivity, the potential for prolonged patient shedding and the ability of the virus to survive for hours on environmental surfaces, RSV has emerged as a serious cause of nosocomial infection.^{3,6} RSV can be detected in human respiratory samples by a variety of methods including tissue culture, immunofluorescent assay and enzyme immunoassay. Although tissue culture is still considered the diagnostic test standard, it requires tissue culture facilities and may take a week to complete. Immunofluorescent antibody-based tests are reasonably sensitive, yet highly dependent on specimen quality and preparation. Enzyme and microparticle-based immunoassays have become one of the most frequently used methods for the detection of RSV.⁶ Tru RSV is a lateral flow-based immunoassay for the rapid detection of RSV in human respiratory samples. The results from this test are used to support data available from the patient's clinical evaluation and assist the physician in determining a course of action.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

Tru RSV is a single use capture immunoassay to detect RSV antigen in human samples. The test consists of a Conjugate Tube, a Test Strip and Sample Diluent. The Conjugate Tube contains a lyophilized bead of colloidal gold-linked monoclonal antibodies to RSV fusion and nucleoproteins (detector antibodies). The Test Strip carries a nitrocellulose membrane with dried capture antibodies placed at a designated Test Line for RSV. The Test Strip holder caps the Conjugate Tube during testing and subsequent disposal to reduce exposure to potential pathogens.

The conjugate bead is first rehydrated in the Conjugate Tube with Sample Diluent. Patient sample is then added, the contents mixed and the Test Strip added. If RSV antigens are present, they first bind to the monoclonal antibody-colloidal gold conjugate. When the sample migrates up the Test Strip to the Test Line, the antigen-conjugate complex is bound to the capture antibody, yielding a pink-red line. When no antigen is present, no complexes are formed and no pink-red line appears at the Test Line. An internal control line helps determine whether adequate flow has occurred through the Test Strip during a test run. A visible pink-red line at the Control position of the Test Strip should be present each time a specimen or control is tested. If no pink-red control line is seen, the test is considered invalid.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

- Test Strip:** A test strip attached to a plastic holder enclosed in a foil pouch with desiccant. The test strip carries monoclonal anti-RSV capture antibodies (to fusion and nucleoproteins^{1,2}) for the test lines. The holder is used to stopper the Conjugate Tube. The strip frame portion of the holder indicates where test and control lines should appear. Store the pouch at 2-25 C when not in use. Do not use the device if the desiccant indicator (line in center of desiccant) changes from blue to pink.
- Conjugate Tube:** A capped plastic tube containing a conjugate bead. The tube is enclosed in a foil pouch. The conjugate consists of gold-conjugated anti-RSV (to fusion and nucleoprotein), which serves as the detector antibodies. Store the foil pouch at 2-25 C when not in use. Do not store in the freezer. Do not remove the cap before use.
- Sample Diluent/Negative Control:** A buffered protein solution provided in a plastic vial. Sodium azide (0.094%) added as a preservative. Use as supplied. Store at 2-25 C when not in use.
- Plastic transfer pipettes with 100, 200 and 300 µL volume marks (see diagram below).
- Tru RSV Conjugate Tube labels (to differentiate Tru RSV Conjugate Tubes from Conjugate Tubes of other Tru assays).

MATERIALS NOT PROVIDED

- Disposable latex gloves (Respiratory samples are considered potentially biologically hazardous material.)
- Vortex for suspending the specimen in the Sample Diluent (optional)
- Interval timer
- Meridian Bioscience RSV Positive Control, (Product Code 751110). Inactivated RSV, influenza A, and influenza B viruses in a buffered diluent containing sodium azide (0.094%) as a preservative. The reagent is supplied ready to use. Store at 2-8 C when not in use. (This adjunct External Control is sold separately.)
- Marking pen

PRECAUTIONS

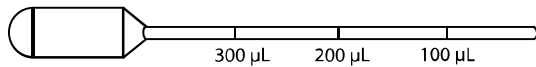
- All reagents are for in vitro diagnostic use only.
- Do not use reagents beyond their expiration dates.
- Test Strips and Conjugate Tubes are packaged in foil pouches that exclude moisture during storage. Inspect each foil pouch before use. Do not use Test Strips or Conjugate Tubes in pouches that have holes or where the pouch has not been completely sealed. Do not use the Test Strip if the desiccant indicator has changed from blue to pink. The change in the desiccant color is an indicator the Test Device has been exposed to moisture. False-negative reactions may result if Test Strips or Conjugate Tubes are exposed to moisture.
- Do not use the Sample Diluent Buffer if it is discolored or turbid. Discoloration or turbidity may be a sign of microbial contamination.
- Directions should be read and followed carefully.
- The Positive Control reagent vial should be held vertically when dispensing drops to ensure consistent drop size and delivery.
- Some patient specimens contain infectious agents; therefore all patient specimens should be handled and disposed of as if they are biologically hazardous.
- Meridian's RSV Positive Control (sold as an adjunct reagent) contains inactivated RSV and influenza antigens and should be handled as if it were potentially infectious. This reagent contains 0.094% sodium azide. Sodium azide is a skin irritant. Avoid skin contact. Disposal of reagents containing sodium azide into drains consisting of lead or copper plumbing can result in the formation of explosive metal oxides. Eliminate build-up of oxides by flushing drains with large volumes of water during disposal.
- All respiratory samples must be mixed thoroughly before testing, regardless of consistency, to ensure a representative sample prior to testing.
- Failure to bring specimens and reagents to room temperature (20-25 C) before testing may decrease assay sensitivity.
- RSV antigens are relatively unstable. Care should be taken to store samples as indicated in this document. Even when samples are stored in the frozen state, the rate at which antigen deterioration occurs varies from sample to sample and cannot be predicted. Caution should be taken when assigning a negative result to samples frozen for longer than two weeks at ≤ -20 C, as such results may be a false-negative.
- Swab samples can be transported in 0.5 to 3 mL of an approved transport medium. Stronger positive reactions may be obtained if the transport medium volume is 0.5 to 1.5 mL.
- Sample Diluent must be added to the Conjugate Tube within one minute after removing the cap from the tube.

HAZARDS AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

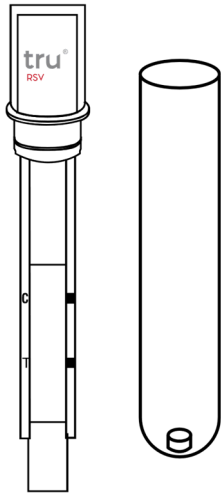
There are no known hazards associated with this product.

PROCEDURAL NOTES

The Tru RSV transfer pipette is diagrammed below.



The Tru RSV Test Strip and Conjugate Tubes are diagrammed below.



SPECIMEN COLLECTION

Warning: Whole blood at concentrations greater than 2.9% may lead to falsely positive test results. Do not use specimens that are obviously contaminated with blood.

- Specimens should be collected and transported in standard containers and stored at 2-8 C until tested. The specimen should be tested as soon as possible, but may be held up to 72 hours at 2-8 C prior to testing. If testing cannot be performed within this time frame, specimens should be frozen immediately on receipt and stored frozen (≤ -20 C) for up to two weeks until tested. (See section on PRECAUTIONS.) A single freeze/thaw cycle should not affect test results.
- The following liquid transport media and swabs are acceptable for collection of specimens:
Transport media: M4, M4-RT, M5, UTM-RT, Stuart's, Hank's Balanced Salt, Amies, Dulbecco's PBS, 0.85% saline, Meridian Viral Transport Medium (Product code 505021). The volume of transport medium should not exceed 3 mL or false-negative results may occur due to sample dilution.
Swabs (Swab/Handle): cotton/plastic, rayon/plastic, flocked nylon/plastic, foam/plastic, polyester/metal, polyester/plastic, rayon/metal, cotton/metal. **Do not use calcium alginate swabs.** The chemical decreases positive reactions. Specimens collected with approved plastic shafted swabs should be processed within 60 minutes. Specimens collected with approved metal shafted swabs should be processed immediately. If testing cannot be performed within the appropriate timeframe, place the swabs in an acceptable transport medium.

SPECIMEN PREPARATION

Bring specimens and reagents to room temperature (20-25 C) before testing.

Nasal wash, nasopharyngeal aspirate or swab specimens in transport media:

- Remove 1 Conjugate Tube from its foil pouch and discard the pouch. Label the tube with the patient's name. Apply a Tru RSV label to the tube.
- Remove the cap from the Conjugate Tube and discard the cap.
- Using a transfer pipette supplied with the kit, immediately add 100 μ L (first mark from the tip of the pipette) of Sample Diluent to the Conjugate Tube. Dispense directly into the center of the tube. Vortex or swirl the contents of the Conjugate Tube for 10 seconds.
Warning: Dilution errors may affect test performance. Failure to add sufficient respiratory sample to the Sample Diluent may result in falsely negative tests. Failure to add the full amount of Sample Diluent may result in falsely positive tests. Addition of too much sample may result in invalid test results due to the inhibition of proper sample flow.
- Mix patient sample regardless of consistency. Use 1 of the transfer pipettes supplied with the kit to mix the sample gently but thoroughly by squeezing the pipette bulb 3 times. Alternatively, mix for at least 10 seconds using a vortex mixer.
- Using the same pipette, draw 100 μ L of specimen (first mark from the end of the pipette) and add it to the Conjugate Tube.
- Using the same pipette, mix the sample and conjugate thoroughly but gently by squeezing the pipette bulb 3 times. Alternatively, mix for at least 10 seconds using a vortex mixer. Discard the pipette.

Nasal and nasopharyngeal swab specimens collected without transport media:

NOTE: Swabs constructed of plastic shafts with flocked nylon or foam absorbent materials are recommended for collecting swab specimens without transport media.

- Remove 1 Conjugate Tube from its foil pouch and discard the pouch. Label the tube with the patient's name. Apply a Tru RSV label to the tube.
- Remove the cap from the Conjugate Tube and discard the cap.
- Using a transfer pipette supplied with the kit, immediately add 300 μ L (third mark from the end of the pipette tip) of Sample Diluent to the Conjugate Tube. Dispense directly into the center of the tube. Vortex or swirl the contents of the Conjugate Tube for 10 seconds. For heavily viscous samples, up to 500 μ L of Sample Diluent can be added. [To deliver 500 μ L with the transfer pipette supplied with the kit, draw and deliver 300 μ L (third mark from the pipette tip) into the Conjugate Tube.] Using the same pipette, draw and deliver an additional 200 μ L (second mark from the pipette tip) into the same Conjugate Tube.
Warning: Dilution errors may affect test performance. Failure to add sufficient respiratory sample to the Sample Diluent may result in falsely negative tests. Failure to add the full amount of Sample Diluent may result in falsely positive tests. Addition of too much sample may result in invalid test results due to the inhibition of proper sample flow.
- Dip the swab into the Conjugate Tube and rotate it 3 times in the liquid. Press the swab against the side of the tube as it is removed to squeeze out as much fluid as possible. Discard the swab.

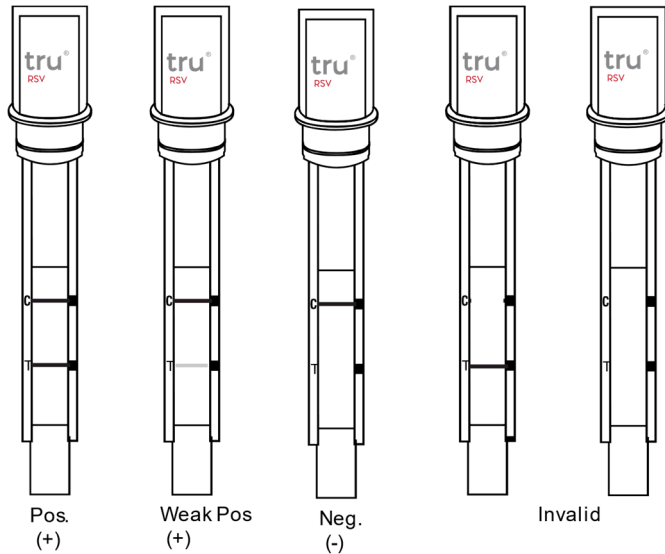
TEST PROCEDURE

- Remove the Test Strip from its foil pouch and discard the pouch.
- Insert the narrow end of the Test Strip into the Conjugate Tube and firmly press down on the cap to close the tube.
- Incubate at 20-25 C for 15 minutes.
- Read the results on the test strip within 1 minute. Do not read results beyond this period. (NOTE: Remove the Test Strip from the Conjugate Tube if Test or Control Lines are difficult to read. Recap the Conjugate Tube with the Test Strip holder and discard when testing is completed.)

EXTERNAL CONTROL TESTS

1. Bring all test components, reagents and samples to room temperature (20-25 C) before testing.
2. Use 1 Conjugate Tube and 1 Test Strip for positive control testing and 1 Conjugate Tube and 1 Test Strip for negative control testing.
3. Remove the Conjugate Tubes from their foil pouches and label accordingly. Discard the pouches.
4. Remove the caps from the Conjugate Tubes and discard the caps.
5. Add exactly 5 drops of the Positive Control reagent to the Conjugate Tube marked for the Positive Control. The drops should be dispensed directly into the center of the tube.
6. Using 1 of the transfer pipettes supplied with the kit, add 200 µL (second mark from the end of the pipette tip) of Sample Diluent/Negative Control to the Conjugate Tube marked for the Negative Control. The drops should be added directly to the center of the tube.
7. Vortex or swirl the contents of the tubes for 10 seconds.
8. Remove 2 Test Strips from their foil pouches and discard the pouches.
9. Insert the narrow end of a Test Strip to each Conjugate Tube and firmly press down on the caps to close each tube.
10. Incubate both tubes at 20-25 C for 15 minutes.
11. Read the results on the test strip within 1 minute. Do not read results beyond this period. (NOTE: Remove the Test Strip from the Conjugate Tube if test or control lines are difficult to read. Recap the Conjugate Tube with the Test Strip holder and discard when testing is completed).

INTERPRETATION OF RESULTS



Negative test: A PINK-RED band at the Control Line position. No other bands are present.

Positive test: PINK-RED band at the Control and RSV Test Line positions. The color of the Test Line can be lighter than that of the Control Line. Test Lines may appear strongly visible or may appear less strongly visible.

Weakly Positive Test: PINK-RED band at the Control position and the appearance of a very faintly visible RSV Test Line (equal to or less in PINK-RED band color intensity compared to the "Weakly Positive" Test Line depicted in the colored illustration given in the procedure card.) Tru RSV weak positive Test Lines should be interpreted with caution since weakly positive test results may represent false-positive tests. In the Tru RSV clinical trials, 35% (23/66) of weak-positive tests were false-positive tests when compared to tissue culture results. (See also LIMITATIONS section.) Weak-positive tests should be considered presumptive positives and should be confirmed by tissue culture or DFA tests.

Invalid test results:

1. No band at the designated position for the Control Line. The test is invalid since the absence of a control band indicates the test procedure was performed improperly or that deterioration of reagents has occurred.
2. A PINK-RED band appearing at the Test Line position of the device after 16 minutes of incubation, or a band of any color other than PINK-RED. Falsely positive results may occur if tests are incubated too long. Bands with colors other than PINK-RED may indicate reagent deterioration.

If any result is difficult to interpret, the test should be repeated with the same sample to eliminate the potential for error. Obtain a new sample and retest when the original sample repeatedly produces unreadable results.

REPORTING OF RESULTS

Negative test: Report test results as "RSV antigens not detected. This result does not exclude viral infection. Negative tests should be confirmed by tissue culture."

RSV Positive test: Report test result as "Positive for RSV antigen. This result does not rule out coinfection with other pathogens."

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

At the time of each use, kit components should be visually examined for obvious signs of microbial contamination, freezing or leakage. Do not use contaminated or suspect reagents.

Internal procedural controls: Internal procedural controls are contained within the Test Strip and therefore are evaluated with each test.

1. A PINK-RED band appearing at the Control Line serves as a procedural control and indicates the test has been performed correctly, that proper flow occurred and that the test reagents were active at the time of use.
2. A clean background around the Control or Test Lines also serves as a procedural control. Control or Test Lines that are obscured by heavy background color may invalidate the test and may be an indication of reagent deterioration, use of an inappropriate sample or improper test performance.

External Control reagents should be tested according to the requirements of the laboratory or applicable local, state or accrediting agencies:

1. See section EXTERNAL CONTROL TESTS for instructions on performing these control tests.
2. The reactivity of each new lot and each new shipment of Tru RSV should be verified on receipt using external Positive and Negative Control reagents. The number of additional tests performed with external controls will be determined by the requirements of local, state or federal regulations or accrediting agencies.
3. The external controls are used to monitor reagent reactivity. Failure of the controls to produce the expected results can mean that one of the reagents or components is no longer reactive at the time of use, the test was not performed correctly, or that reagents or samples were not added. If the positive and negative external controls fail, do not report test results to the clinician.
4. The results expected with the Controls are described in the section on INTERPRETATION OF RESULTS.

The kit should not be used if control tests do not produce the correct results. **Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.**

Positive and Negative Control reagents manufactured for this assay are prepared in the matrix of the Sample Diluent, which may not mimic test specimens. If control materials that are identical in composition to test specimens are preferred, the user can prepare those by diluting known positive and negative specimens in Sample Diluent according to the SPECIMEN PREPARATION section of this insert.

EXPECTED VALUES

The positivity rate for each laboratory will be dependent on several factors including the method of specimen collection, the handling and transportation of the specimen, the time of year, the age of the patient and the prevalence of RSV at the time of testing. The Centers for Disease Control reports that outbreaks of RSV infections occur annually, usually during late fall, winter and spring months. The timing and severity of an outbreak in a community varies from year to year. The prevalence of RSV infection in the US during Tru RSV trials (December 2006 to March 2007) as reported by CDC, ranged from a high of approximately 15% in December to a low of approximately 4% in March. The monthly prevalence rates at the clinical trial sites, based on the results of prospective samples, were December 43%, January 37%, February 7% and March 5%.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The test is qualitative and no quantitative interpretation should be made with respect to the intensity of the positive line when reporting the result.
2. The performance of Tru RSV has not been established in patients greater than five years of age.
3. Test results are to be used in conjunction with information available from the patient clinical evaluation and other diagnostic procedures.
4. Overincubation of tests may lead to false-positive test results. Incubating tests at reduced temperatures or times may lead to falsely negative results.
5. Anti-microbials, anti-virals and interferon were not evaluated for potentially interfering properties.
6. Tru RSV detects both viable and non-viable RSV. The appearance of Tru RSV positive tests depend on RSV antigen load in the specimen; therefore a Tru RSV positive test may not correlate with the results of tissue culture performed on the same specimen.
7. The antibodies used in the test may not detect all antigenic variants or new strains of RSV.
8. A negative test result does not exclude infection with RSV nor does it rule out other microbial-caused respiratory infections. A positive test result does not rule out coinfection with other microbes.
9. Dry swab specimens are not as stable as swab specimens in transport medium. Studies performed at Meridian suggest deterioration occurs more rapidly on metal shafted swabs, than on plastic-shafted swabs.
10. In all immunochromatographic assays, faintly visible or weak test lines are more likely to be falsely positive than are strongly positive test lines. As with any diagnostic procedure, the result of a Tru RSV test should be used in conjunction with other tests and the patient's clinical picture.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical studies evaluated the performance of Tru RSV in the laboratory setting. Four independent laboratories in different geographic regions of the US and the manufacturer's laboratory tested a total of 625 samples from symptomatic patients under five years of age and that had been submitted for RSV testing. Three hundred four of the samples were collected during the 2006-07 season and tested fresh, while 321 were tested as frozen/thawed samples. Frozen samples were collected during the 2006-07 and earlier seasons and tested by tissue culture before freezing. Samples were evenly distributed among male and female patients. Samples that produced different test results in Tru RSV than in tissue culture were either tested by direct specimen fluorescence assay (DSFA) or by a polymerase chain reaction (PCR) assay. Those found to be RSV positive on reculture or by DSFA or PCR are indicated in the postscripts to the tables below.

Table 1. Distribution of Tru RSV data by sample type

Fresh Wash/Aspirate		Tru RSV**	
Tissue Culture	Positive	Negative	Total
Positive	64	8	72
Negative	21*	90	111
Total	85	98	183
			95% CI
Sensitivity	64/72	88.9%	79.3-95.1%
Specificity	90/111	81.1%	73.8-88.4%
Correlation	154/183	84.2%	78.9-89.4%

* Of the 21 Tru RSV false-positive results three were positive by DSFA

** One Tru RSV invalid test

Fresh Swab		Tru RSV	
Tissue Culture	Positive	Negative	Total
Positive	12	1	13
Negative	7*	100	107
Total	19	101	120
			95% CI
Sensitivity	12/13	92.3%	64.0-99.8%
Specificity	100/107	93.5%	87.0-97.3%
Correlation	112/120	93.3%	87.3-97.1%

* Of the seven Tru RSV false-positive results, four were positive by PCR

Frozen Wash/Aspirate		Tru RSV	
Tissue Culture	Positive	Negative	Total
Positive	79	9	88
Negative	12*	149	161
Total	91	158	249
			95% CI
Sensitivity	79/88	89.8%	81.5-95.2%
Specificity	149/161	92.5%	87.3-96.1%
Correlation	228/249	91.6%	87.4-94.7%

* Of the 12 Tru RSV false-positive results, two were positive by DSFA

Frozen Swab		Tru RSV	
Tissue Culture	Positive	Negative	Total
Positive	33	13	46
Negative	1	25	26
Total	34	38	72
			95% CI
Sensitivity	33/46	71.7%	56.5-84.0%
Specificity	25/26	96.2%	80.4-99.9%
Correlation	58/72	80.6%	69.5-88.9%

NOTE: As the data in Table 1 indicates, the performance characteristics generated from prospective frozen specimens might not be the same as the performance characteristics generated from prospective fresh specimens.

Table 2. Distribution of test results by test site

Fresh Wash/Aspirate		Positive Samples		Negative Samples		
Site ID	Tru/Culture	Sensitivity %	95% CI	Tru/Culture	Specificity %	95% CI
1	7/8	87.5%	47.3-99.7%	31/45	68.9%	53.4-81.8%
2	3/3	100%	29.2-100%	2/2	100%	15.8-100%
4	54/61	88.5%	77.8-95.3%	57/64	89.1%	78.8-95.5%
Frozen Wash Aspirate		Positive Samples		Negative Samples		
Site ID	Tru/Culture	Sensitivity %	95% CI	Tru/Culture	Specificity %	95% CI
2	5/5	100%	47.8-100%	0/0	N/A	N/A
3	40/47	85.1%	71.7-93.8%	112/122	91.8%	85.4-96.0%
4	34/36	94.4%	81.3-99.3%	37/39	94.9%	82.7-99.4%
Fresh Swab		Positive Samples		Negative Samples		
Site ID	Tru/Culture	Sensitivity %	95% CI	Tru/Culture	Specificity %	95% CI
2	8/9	88.9%	51.8-99.7%	11/15	73.3%	44.9-92.2%
4	3/3	100%	29.2-100%	37/37	100%	90.5-100%
5	1/1	N/A	N/A	53/55	96.4%	87.5-99.6%
Frozen Swab		Positive Samples		Negative Samples		
Site ID	Tru/Culture	Sensitivity %	95% CI	Tru/Culture	Specificity %	95% CI
2	1/1	100%	N/A	2/2	100%	15.8-100%
3	27/39	69.2%	52.4-83.0%	14/15	93.3%	68.0-99.8%
4	5/6	83.3%	35.9-99.6%	9/9	100%	66.4-100%

ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of this assay was established in tests with dilutions of three RSV A strains (VR-26, VR-1302, VR-1540) and three RSV B strains (VR-955, VR-1400, VR-1401). The lower limit of detection (see table below) is dependent on factors such as cell culture lines used, the number of passages performed and the effectiveness of the isolation methods. For these reasons, assay limit of detection levels may vary if other strains or samples are used.

Strain ID	Strain Type	Limit of Detection (LoD) TCID ₅₀ /mL
VR-26	A	2.49 x 10 ²
VR-1302	A	4.47
VR-1540	A	5.52 x 10 ¹
VR-955	B	4.47
VR-1400	B	1.10 x 10 ¹
VR-1401	B	2.47

REPRODUCIBILITY

Assay precision, intra-assay variability and inter-assay variability were assessed with a reference panel prepared from pools of negative samples spiked with specific virus. The reproducibility panel consisted of high positive (n=2), low negative (n=2), and low positive (n=3) and high negative specimens (n=3). The latter were prepared near the assay limit of sensitivity. Each sample was evaluated twice per day for three consecutive days by three different laboratories. Reproducibility was 100% with no intra-assay and inter-assay variability for samples prepared above or below the limit of analytical sensitivity.

CROSSREACTIVITY

The specificity of Tru RSV was tested utilizing the following bacterial, viral and yeast strains. RSV positive and negative respiratory specimens were spiked with $\geq 4 \times 10^7$ /mL bacteria or yeast. Viruses were tested at levels $\geq 6.7 \times 10^4$ TCID₅₀/mL. None of the microorganisms tested yielded a positive result in the RSV-negative sample or interfered with detection of the RSV-positive sample. The RSV-negative respiratory sample was positive when spiked with RSV strain VR-26.

Adenovirus Types 1, 5 and 7A, Coxsackie Type A9, Human Coronavirus Types 229E and OC43, Cytomegalovirus, Influenza A (2 strains), Influenza B (1 strain), Human metapneumovirus, Measles, Parainfluenza Types 1, 2 and 3, Rhinovirus Type 39, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Branhamella catarrhalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquifaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (not typed), *Streptococcus* Groups A, B, D, F, and G, *Streptococcus pneumoniae*.

A clinical sample containing Epstein Barr virus at 2.32×10^8 genome equivalents/mL was nonreactive with Tru RSV.

TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES

The following substances, when introduced directly into nasal samples, do not interfere with testing at the concentrations identified: Acetaminophen (10 mg/mL), Acetylsalicylic acid (20 mg/mL), Albuterol (9.1% v/v), Halls® Throat Drops (20 mg/mL), Ludens® Throat Drops (20 mg/mL), Chlorpheniramine maleate (1.7 mg/mL), Clemastine fumarate (5 mg/mL), Diphenhydramine HCl (5 mg/mL), Dextromethorphan (9.1% v/v), Naproxen sodium (10 mg/mL), Phenylephrine hydrochloride (9.1% v/v), Oxymetazoline (9.1% v/v), Guaifenesin (9.1% v/v), Pseudoephedrine HCl (20 mg/mL), Listerine® Mouthwash (9.1% v/v).

Whole blood at concentrations greater than 2.9% interfered with test interpretation. Chlorpheniramine maleate at concentrations greater than 1.7 mg/mL may cause false-positive test results.



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,977S B2)

**Test immunologico rapido per il rilevamento degli antigeni del Virus Respiratorio Sinciziale (RSV)
in campioni di lavaggio nasale, aspirato nasofaringeo, in tamponi nasofaringei e nasali**

REF 751330

IVD

Rx Only

FINALITÀ D'USO

Tru RSV è un test immunologico rapido, qualitativo, a flusso laterale per il rilevamento degli antigeni (proteina di fusione o nucleoproteina^{1, 2}) del virus respiratorio sinciziale (RSV) nei campioni di lavaggio nasale, di aspirato nasofaringeo e di tamponi nasofaringei e nasali umani. E' studiato per essere utilizzato dai laboratori clinici per l'analisi di campioni provenienti da pazienti sintomatici con un'età massima di cinque anni. Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione da RSV. Si raccomanda di confermare tutti i risultati negativi con una coltura cellulare. I risultati di questo test sono da usarsi in combinazione con altri test clinici e con le condizioni del paziente per diagnosticare infezioni associate a RSV.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il virus respiratorio sinciziale (RSV) è la causa principale di polmonite e bronchiolite nei bambini nella prima infanzia e in età prescolare. Ogni anno circa 90,000 bambini vengono ospedalizzati a causa dell'RSV soltanto negli Stati Uniti.³ L'ospedalizzazione causata dall'RSV riguarda più di frequente bambini affetti da un disturbo di fondo o nati prematuramente.⁴ I tassi di mortalità sono valutati fra l'1 e il 3% per i bambini ospedalizzati a causa dell'RSV.³ L'RSV inoltre viene identificato più di frequente come causa di malattie respiratorie gravi negli anziani.⁵ L'RSV causa una vasta gamma di sintomi respiratori che possono essere difficili da distinguere clinicamente dai sintomi causati da altri virus respiratori quali il virus influenzale.³ Per via della sua elevata infettività, del potenziale per uno shedding virale prolungato e della capacità del virus di sopravvivere per ore su superfici ambientali, l'RSV è considerato una causa importante di infezioni nosocomiali.^{3, 6} L'RSV viene rilevato in campioni respiratori umani utilizzando vari metodi, fra cui coltura tissutale, test in immunofluorescenza e test immunologici enzimatici. La coltura tissutale è ancora considerata lo standard diagnostico, tuttavia questa procedura richiede strutture specializzate in coltura tissutale e può impiegare una settimana per essere completata. Pur essendo moderatamente sensibili, i test in immunofluorescenza basati su anticorpi dipendono in gran parte dalla qualità e dalla preparazione dei campioni.⁶ Tru RSV è un test immunologico rapido a flusso laterale per il rilevamento dell'RSV in campioni respiratori umani. I risultati di questo test vengono usati per convalidare i dati delle valutazioni cliniche dei pazienti e per assistere i medici nella determinazione della terapia da somministrare.

PRINCIPI BIOLOGICI

Tru RSV è un test immunologico di cattura monouso per il rilevamento dell'antigene dell'RSV nei campioni umani. Il test comprende una provetta con coniugato, una striscia per le analisi e un diluente per campione. La provetta con coniugato contiene un granulo liofilizzato di anticorpi monoclonali coniugati a oro colloidale specifici per le proteine di fusione e le nucleoproteine dell'RSV (anticorpi di rilevamento). La striscia test contiene una membrana di nitrocellulosa su cui sono immobilizzati a secco gli anticorpi di cattura disposti sulla linea test per RSV. Il dispositivo portastriscia serve a sigillare la provetta con coniugato durante le analisi e il successivo smaltimento, al fine di limitare l'esposizione ad eventuali agenti patogeni.

Il granulo di coniugato viene reidratato con il diluente del campione nella provetta con coniugato, quindi si aggiunge il campione del paziente, si miscela il contenuto e si aggiunge la striscia per le analisi. Se gli antigeni dell'RSV sono presenti, si legano prima all'anticorpo monoclonale coniugato a oro colloidale. Quando il campione migra nella posizione di analisi attraverso la striscia, il complesso antigene-coniugato si lega all'anticorpo di cattura, producendo una linea rosa-rossa. Se l'antigene non è presente, non si forma alcun complesso e la linea rosa-rossa non appare nella posizione di analisi. Una linea di controllo all'interno della striscia permette di stabilire se nel corso del test il flusso è stato adeguato. La linea rosa-rossa che appare nella posizione di controllo della striscia è presente ogni volta che si eseguono le analisi di un campione o di un controllo. Qualora tale linea sia assente, l'analisi sarà dovrà essere considerata non valida.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

- Striscia Test:** Striscia fissata a un portastriscia di plastica, racchiusa in una busta di alluminio con essiccante. La striscia test contiene anticorpi di cattura monoclonali anti-RSV (anti proteine di fusione e nucleoproteine^{1, 2}) corrispondenza della linea test. Il portastriscia serve a sigillare la provetta con coniugato. L'alloggiamento della striscia nel portastriscia indica il punto in cui devono apparire le linee di analisi e quelle di controllo. Quando non viene usata, conservare la busta a una temperatura compresa fra 2 e 25 C. Non usare il dispositivo se l'indicatore dell'essiccante (la linea al centro dell'essiccante) cambia colore da blu a rosa.
- Provetta con coniugato:** Provetta di plastica con cappuccio, contenente un granulo di coniugato. La provetta è contenuta all'interno di una busta di alluminio. Il coniugato è composto da anticorpi anti-RSV (alle proteine di fusione e interne) coniugati con particelle di oro, che fungono da anticorpi di rilevamento. Quando non viene usata, conservare la busta di alluminio a una temperatura compresa fra 2 e 25 C. Non congelare. Non rimuovere il cappuccio prima dell'uso. Non usare il dispositivo se l'indicatore dell'essiccante (la linea al centro dell'essiccante) cambia colore da blu a rosa.
- Diluente del campione/Controllo negativo:** Soluzione proteica tamponata fornita in un flacone di plastica con Sodio azide (0,094%) aggiunto come conservante. Il prodotto è pronto all'uso. Quando non viene usato, conservare il prodotto a una temperatura compresa fra 2 e 25 C.
- Pipette di trasferimento in plastica con tacche indicanti il volume: 100, 200 e 300 µL (vedere il diagramma di seguito).
- Etichette per la provetta con coniugato Tru RSV (per distinguere le provette con coniugato Tru RSV dalle provette con coniugato di altri test Tru.)

MATERIALI NON FORNITI

- Guanti di lattice monouso (i campioni respiratori vanno considerati sostanze potenzialmente infette).
- Agitatore vortex per la sospensione del campione nel diluente del campione (facoltativo)
- Timer
- Controllo positivo Meridian Bioscience RSV, (numero di catalogo 751110). Virus RSV, influenza A e influenza B inattivati, in un diluente tamponato contenente sodio azide (0,094%) come conservante. Il reagente è fornito pronto all'uso. Quando non viene usato, conservare il prodotto a una temperatura compresa fra 2 e 8 C. (Questo Controllo esterno aggiuntivo è venduto separatamente).
- Pennarello marcatore

PRECAUZIONI

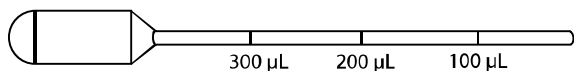
1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza.
3. Le strisce test e le provette con coniugato sono confezionate in buste di alluminio per evitare l'esposizione all'umidità durante la conservazione. Controllare attentamente ciascuna busta prima dell'uso. Non usare le strisce test o le provette con coniugato se le buste di alluminio presentano fori o non appaiono completamente sigillate. Non usare la striscia per le analisi se l'indicatore dell'essiccante ha cambiato colore, da blu a rosa. Tale cambiamento di colore indica che il dispositivo di analisi o la provetta con coniugato è stato esposto all'umidità. Un'esposizione all'umidità delle strisce per le analisi o delle provette con coniugato può dar luogo a risultati falso-negativi.
4. Non usare il tampone diluente del campione se appare scolorito o torbido, in quanto ciò potrebbe indicare la presenza di una contaminazione microbica.
5. Leggere e seguire attentamente le istruzioni.
6. Il flacone del reagente del controllo positivo va mantenuto in posizione verticale durante l'erogazione delle gocce, al fine di assicurarne portata e dosaggio costanti.
7. Alcuni campioni dei pazienti possono contenere altri agenti infettivi, pertanto tutti i campioni vanno maneggiati e smaltiti come sostanze biologicamente pericolose.
8. Il controllo positivo Meridian RSV (venduto come reagente aggiuntivo) contiene antigeni inattivati dell'RSV e dell'influenza, e pertanto va maneggiato come sostanza potenzialmente infetta. Questo reagente contiene sodio azide 0,094%, una sostanza irritante per la pelle. Evitare il contatto con la pelle. L'eliminazione di reagenti contenenti sodio azide in scarichi costituiti da tubature di piombo o di rame può dare origine alla formazione di ossidi metallici esplosivi. Per evitare la formazione di tali composti è necessario far scorrere l'acqua abbondantemente durante l'operazione di smaltimento.
9. Tutti i campioni respiratori vanno miscelati a fondo prima delle analisi, a prescindere dalla consistenza, al fine di ottenere un adeguato campione rappresentativo.
10. Se i campioni e reagenti del kit non hanno raggiunto temperatura ambiente (20-25 °C) prima di dare inizio alle analisi, la sensibilità del test potrebbe diminuire.
11. Gli antigeni dell'RSV sono relativamente instabili. Conservare i campioni con cura, come indicato in questo documento. Anche quando i campioni vengono congelati, il tasso di deterioramento degli antigeni varia da campione a campione e pertanto non può essere prestabilito. Fare attenzione nell'attribuire risultati negativi ai campioni congelati per più di due settimane a ≤ -20 °C, in quanto tali risultati potrebbero essere falso-negativi.
12. I campioni raccolti mediante tampone possono essere trasportati in un terreno di trasporto approvato in un volume che varia da 0,5 a 3 mL. E' possibile ottenere reazioni positive più intense se il volume del terreno di trasporto è compreso tra 0,5 e 1,5 mL.
13. Il diluente del campione va aggiunto nella provetta con coniugato entro un minuto da quando si è rimosso il cappuccio dalla provetta.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

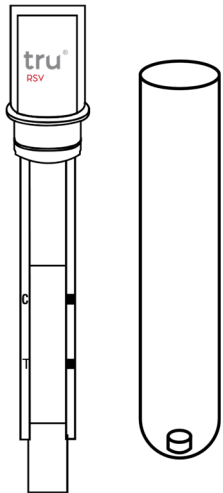
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

NOTE PROCEDURALI

Il seguente disegno mostra la pipetta di trasferimento Tru RSV.



Il diagramma seguente mostra la striscia per le analisi e le provette con coniugato Tru RSV.



RACCOLTA DEI CAMPIONI

Avvertenza: la presenza di sangue intero a concentrazioni superiori al 2,9% può dare origine a risultati falso-positivi. Non utilizzare campioni che appaiono visibilmente contaminati.

1. I campioni vanno raccolti e trasportati in contenitori standard e vanno conservati a 2-8 °C fino al momento delle analisi. I campioni devono essere analizzati non appena possibile, ma possono essere conservati fino a 72 ore ad una temperatura compresa tra 2 e 8 °C prima delle analisi. Qualora non sia possibile eseguire le analisi entro questo intervallo di tempo, congelare immediatamente i campioni e conservarli congelati (≤ -20 °C) al massimo per due settimane prima delle analisi. (Vedere la sezione PRECAUZIONI). Un unico ciclo di congelamento/scongelamento non dovrebbe avere alcun effetto sui risultati.
2. I terreni di trasporto liquidi e i tamponi qui indicati sono adatti alla raccolta dei campioni:
Terreni di trasporto: M4, M4-RT, M5, di Stuart, sale bilanciato di Hank, Amies, tampone fosfato sterile (PBS) di Dulbecco, soluzione fisiologica allo 0,85%, Meridian Viral Transport (numero di catalogo 505021). Il volume del terreno di trasporto non deve essere superiore a 3 mL, in caso contrario potrebbero verificarsi risultati falso-negativi a causa della diluizione del campione.
Tamponi (tampone/impugnatura): cotone/plastica, rayon/plastica, nylon floccato/plastica, polistirolo/plastica, poliestere/metallo, poliestere/plastica, rayon/metallo, cotone/metallo.
Non usare tamponi di calcio alginato. Questa sostanza riduce le reazioni positive. I campioni raccolti con tamponi con impugnatura in plastica dovrebbero essere processati entro 60 minuti. I campioni raccolti con tamponi con impugnatura in metallo dovrebbero essere analizzati immediatamente. Se il test non può essere eseguito nei tempi indicati, porre il tampone in un terreno di trasporto idoneo.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Portare campioni e reagenti a temperatura ambiente (20-25 °C) prima di dare inizio alle analisi.

Campioni di lavaggio nasale, aspirato nasofaringeo o campioni su tamponi in terreni di trasporto:

1. Estrarre 1 provetta con coniugato dalla busta di alluminio e gettare via la busta. Etichettare la provetta con il nome del paziente. Applicare un'etichetta Tru RSV sulla provetta.
2. Rimuovere il cappuccio dalla provetta con coniugato e gettare via il cappuccio.
3. Utilizzando una pipetta di trasferimento fornita con il kit, aggiungere immediatamente 100 µL (prima tacca dalla punta della pipetta) di diluente del campione alla provetta con coniugato. Dispensare direttamente al centro della provetta. Agitare con il vortex o agitare a mano il contenuto della provetta con coniugato per 10 secondi.
Avvertenza: errori nella diluizione possono influenzare le performance del test. L'aggiunta di un quantitativo insufficiente di campione respiratorio al Diluente del Campione può portare a risultati falso-negativi. L'aggiunta di un quantitativo errato o insufficiente di Diluente del Campione può portare a risultati falso-positivi. L'aggiunta di un quantitativo eccessivo di campione respiratorio può dare origine a risultati invalidi causando una inibizione del corretto flusso nel dispositivo.
4. Miscelare il campione del paziente indipendentemente dalla sua consistenza. Usare 1 delle pipette di trasferimento fornite con il kit per miscelare il campione a fondo, ma delicatamente, premendo il bulbo della pipetta 3 volte. In alternativa, miscelare i componenti per almeno 10 secondi con un agitatore vortex.
5. Usando la stessa pipetta, aspirare 100 µL di campione (prima tacca dalla base della pipetta) e aggiungerlo nella provetta con coniugato.
6. Usando la stessa pipetta, miscelare il campione e il coniugato a fondo, ma delicatamente, premendo il bulbo della pipetta tre volte. In alternativa, miscelare i componenti per almeno 10 secondi con un agitatore vortex. Gettare via la pipetta.

Campioni di tamponi nasali e nasofaringei raccolti senza terreni di trasporto:

NOTA: per la raccolta di campioni senza terreno di trasporto, si consiglia di usare tamponi con impugnatura in plastica e punta in nylon floccato o schiuma assorbente.

1. Estrarre una provetta con coniugato dalla busta di alluminio e gettare via la busta. Etichettare la provetta con il nome del paziente. Applicare un'etichetta Tru RSV sulla provetta.
2. Rimuovere il cappuccio dalla provetta con coniugato e gettare via il cappuccio.
3. Utilizzando una pipetta di trasferimento fornita con il kit, aggiungere immediatamente 300 µL (terza tacca dalla punta della pipetta) di diluente del campione alla provetta con coniugato. Utilizzando la stessa pipetta, aspirare e gettare via il contenuto della provetta. Agitare con il vortex o agitare a mano il contenuto della provetta con coniugato per 10 secondi. Per campioni altamente viscosi, è possibile aggiungere un massimo di 500 µL di diluente del campione. [Per dispensare 500 µL con la pipetta di trasferimento fornita con il kit, aspirare e dispensare 300 µL (terza tacca dalla punta della pipetta) nella provetta con coniugato. Utilizzando la stessa pipetta, aspirare e dispensare 200 µL aggiuntivi (seconda tacca dalla punta della pipetta) nella stessa provetta con coniugato].
Avvertenza: errori nella diluizione possono influire sulle prestazioni del test. Se al diluente del campione non si aggiungono quantità sufficienti di campione respiratorio, si possono ottenere risultati falso-negativi. Se non si aggiunge la quantità intera di diluente del campione, si possono ottenere risultati falso-positivi. Se si aggiunge una quantità eccessiva di campione, si possono ottenere risultati non validi a causa dell'inibizione del flusso di campione.
4. Immergere il tampone nella provetta di coniugato e ruotarlo tre volte nel liquido. Mentre si estrae il tampone, premerlo contro il lato della provetta per far fuoriuscire quanto più liquido possibile. Gettare via il tampone.

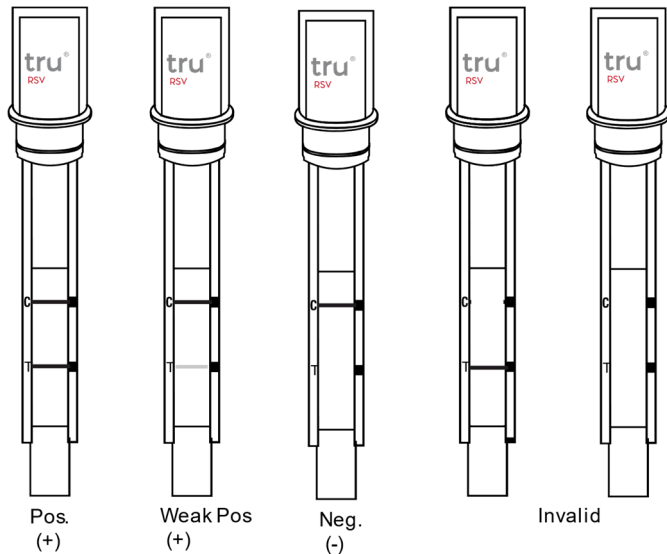
PROCEDURA DEL TEST

1. Estrarre la Striscia Test dalla busta di alluminio e gettare via la busta.
2. Inserire l'estremità più stretta della striscia nella provetta con coniugato e premere bene il cappuccio per chiudere la provetta.
3. Incubare a 20-25 °C per 15 minuti.
4. Leggere i risultati sulla striscia di nitrocellulosa entro 1 minuto. Trascorso questo tempo non leggere i risultati (NOTA: estrarre la striscia per le analisi dalla provetta con coniugato se la linea test o quella di controllo sono difficili da leggere. Rimettere il cappuccio sulla provetta di coniugato utilizzando il portastriscia e gettare via la provetta al termine delle analisi).

ANALISI CON CONTROLLI ESTERNI

1. Prima di dare inizio alle analisi, portare componenti, reagenti e campioni a temperatura ambiente (20-25 °C).
2. Usare 1 provetta con coniugato e 1 striscia per il controllo positivo e 1 provetta con coniugato e 1 striscia per il controllo negativo.
3. Estrarre le provette con coniugato dalle buste di alluminio ed etichettarle a seconda dell'uso previsto. Gettare via le buste.
4. Rimuovere i cappucci dalle provette con coniugato e gettare via i cappucci.
5. Aggiungere esattamente 5 gocce del reagente di controllo positivo nella provetta con coniugato etichettata per il controllo positivo. Le gocce vanno dispensate direttamente al centro della provetta.
6. Utilizzando 1 una delle pipette di trasferimento fornite con il kit, aggiungere 200 µL (seconda tacca dalla punta della pipetta) di diluente del campione/controllo negativo nella provetta con coniugato etichettata per il controllo negativo. Le gocce vanno aggiunte direttamente al centro della provetta.
7. Agitare con il vortex o agitare a mano il contenuto delle provette per 10 secondi.
8. Estrarre 2 strisce test dalle buste di alluminio e gettare via le buste.
9. Inserire l'estremità più stretta della striscia in ciascuna provetta con coniugato e premere bene i cappucci per chiudere le provette.
10. Lasciare incubare entrambe le provette a 20-25 °C per 15 minuti.
11. Leggere i risultati sulla striscia di nitrocellulosa entro 1 minuto. Trascorso questo tempo non leggere i risultati (NOTA: estrarre la striscia test dalla provetta con coniugato se la linea test o quella di controllo sono difficili da leggere. Rimettere il cappuccio sulla provetta con coniugato utilizzando il portastriscia e gettare via la provetta al termine delle analisi).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



Risultato di analisi negativo: una linea ROSA-ROSSA nella posizione Controllo. Non compaiono altre linee.

Risultato di analisi positivo: linee ROSA-ROSSE nella posizione Controllo e nella posizione Test RSV. Il colore della linea Test può essere meno intenso rispetto a quello della linea di Controllo. L'intensità delle linee Test può essere più o meno marcata.

Risultato di analisi debolmente positivo: una linea ROSA-ROSSA nella posizione di controllo e una linea nella posizione Test RSV di colore molto tenue (linea ROSA-ROSSA della stessa intensità o di intensità minore rispetto alla linea Test "debolmente positiva" nell'illustrazione a colori inclusa nella scheda della procedura). Le linee Test Tru RSV debolmente positive devono essere interpretate con cautela, in quanto risultati debolmente positivi potrebbero corrispondere a dei falso-positivi. Nei test clinici Tru RSV, è emerso che il 35% (23/66) dei risultati debolmente positivi risultavano essere dei falso-positivi dopo il confronto con i risultati delle colture tissutali. (Vedere anche la sezione LIMITI). I risultati debolmente positivi vanno considerati presunti positivi e devono essere confermati da colture tissutali o da analisi con il metodo di fluorescenza diretta su vetrino (DFA).

Risultati di analisi non validi:

1. Non appare alcuna linea nella posizione designata al controllo. L'analisi non è valida in quanto l'assenza della linea di controllo indica che la procedura di analisi non è stata eseguita correttamente o che si è verificato il deterioramento dei reagenti.
2. Una linea ROSA-ROSSA appare nella posizione di analisi dopo 16 minuti di incubazione, o una linea di qualsiasi altro colore che non sia ROSA-ROSSO. Se le analisi vengono incubate troppo a lungo possono verificarsi risultati falso-positivi. Linee di altri colori che non siano ROSA-ROSSO possono indicare il deterioramento del reagente.

In caso di un risultato di difficile interpretazione il test dovrebbe essere ripetuto sullo stesso campione, al fine di evitare ogni possibile errore. Ottenere un nuovo campione qualora analisi successive dello stesso campione producano in modo ripetibile risultati non interpretabili.

REFERTAZIONE DEI RISULTATI

Risultato di analisi negativo: refertare i risultati delle analisi con la seguente dicitura: "Antigeni dell'RSV non rilevati. Questo risultato non esclude la possibilità di un'infezione virale." Risultati negativi dovrebbero essere confermati mediante coltura.

Risultato di analisi positivo all'RSV: refertare i risultati delle analisi con la seguente dicitura: "Risultato positivo per l'antigene dell'RSV. Questo risultato non esclude la coinfezione con altri agenti patogeni."

CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

Ad ogni utilizzo, esaminare visivamente i componenti del kit per controllare che non vi siano segni di contaminazione microbica, congelamento o perdite. Non usare reagenti contaminati o sospetti.

Controlli interni: i controlli procedurali interni sono contenuti nelle strisce test e pertanto vengono valutati nel corso di ciascuna analisi.

1. Una linea rosa-rossa nella posizione di controllo funge da controllo positivo interno e indica che l'analisi è stata eseguita correttamente, il campione è stato aggiunto ed è migrato correttamente e i reagenti erano attivi al momento dell'uso.
2. Uno sfondo incolore attorno alle posizioni di controllo o alle posizioni di analisi funge da controllo negativo. Uno sfondo di colore scuro che preclude la lettura dei risultati nella posizione Controllo o nella posizione Test rende l'analisi non valida e indica il deterioramento del reagente, la raccolta inadeguata del campione o prestazioni di analisi errate.

I reagenti di controllo esterno vanno analizzati conformemente ai requisiti del laboratorio o ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, statali o di accreditamento:

1. Vedere la sezione ANALISI CON CONTROLLI ESTERNI per istruzioni su come eseguire tali analisi di controllo.
2. La reattività di ciascun lotto e di ciascuna nuova fornitura di Tru RSV dovrebbe essere verificata alla consegna usando i reagenti di controllo positivo e negativo esterno. Il numero di analisi aggiuntive eseguite con i controlli esterni sarà determinato in base alle normative locali, statali, nazionali e degli enti di accreditamento.
3. I controlli esterni servono a controllare la reattività dei reagenti. Risultati inattesi possono indicare che uno dei reagenti o dei componenti non è più reattivo al momento dell'uso, che l'analisi non è stata eseguita correttamente, oppure che i reagenti o i campioni non sono stati aggiunti. In caso di risultati erranei con i controlli esterni positivi e negativi non utilizzare il dispositivo per refertare.
4. I risultati attesi con i controlli sono descritti nella sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI.

Se le analisi di controllo non producono i risultati corretti, non utilizzare il kit. **Come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test di controllo. Si il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (in Italia +390331433636).**

I reagenti del controllo positivo e negativo prodotti per questo test sono preparati nella matrice del diluente del campione, che potrebbe non riprodurre la matrice dei campioni reali. Se per le analisi dei campioni si preferisce usare materiali di controllo di composizione identica a quella dei campioni stessi, l'utente può prepararli diluendo i campioni noti positivi e negativi nel diluente secondo le istruzioni indicate nella sezione PREPARAZIONE DEI CAMPIONI di questo inserto.

VALORI ATTESI

Il tasso di valori positivi ottenuti in ciascun laboratorio dipende da diversi fattori, tra cui il metodo di raccolta, la manipolazione e il trasporto dei campioni, la stagione dell'anno, l'età dei pazienti e la prevalenza di RSV al momento delle analisi. Il Centers for Disease Control statunitense informa che le infezioni causate dall'RSV si verificano ogni anno, generalmente nelle ultime settimane del periodo autunnale e nei mesi invernali e primaverili. Il periodo di manifestazione e la gravità dell'infezione all'interno di una specifica comunità varia di anno in anno. La prevalenza dell'infezione da RSV negli Stati Uniti nel corso dei test clinici Tru RSV (da dicembre 2006 a marzo 2007), come riportato dal CDC, era compresa fra un livello elevato pari a circa il 15% nel mese di dicembre e un livello basso pari a circa il 4% nel mese di marzo. I tassi di prevalenza mensili nelle sedi dei test clinici, in base ai risultati di campioni prospettivi, erano 43% a dicembre, 37% a gennaio, 7% a febbraio e 5% a marzo.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Il test è qualitativo, pertanto non si devono formulare interpretazioni quantitative dei valori ottenuti in base all'intensità della linea positiva.
2. Le prestazioni di Tru RSV non sono state determinate in pazienti di età superiore a cinque anni.
3. I risultati del test devono essere utilizzati insieme alle informazioni ricavate dall'esame clinico del paziente e da altre procedure diagnostiche.
4. Un tempo di incubazione del test più esteso di quanto indicato può produrre risultati falso-positivi. Le incubazioni condotte a temperature o intervalli di tempo inferiori a quelli previsti possono produrre risultati falso-negativi.
5. Non sono stati esaminati anti-microbici, anti-virali e interferoni per valutarne le proprietà potenzialmente interferenti.
6. Tru RSV rileva sia il virus RSV attivo che il virus RSV inattivo. La comparsa di risultati positivi di Tru RSV dipende dal quantitativo totale di antigene presente nel campione; perciò un risultato positivo Tru RSV potrebbe non corrispondere ai risultati di colture tissutali eseguite con lo stesso campione.
7. Gli anticorpi utilizzati nelle analisi potrebbero non rilevare tutte le varianti antigeniche o nuovi ceppi di RSV.
8. Un risultato negativo non esclude l'infezione da RSV né esclude la presenza di co-infezioni causate da altri patogeni respiratori. Un risultato positivo non esclude la coinfezione causata da altri agenti microbici.
9. I campioni su tamponi a secco non sono stabili come i campioni su tamponi in terreno di trasporto. Studi eseguiti da Meridian indicano che il deterioramento avviene più rapidamente per i tamponi con impugnatura di metallo rispetto ai tamponi con impugnatura di plastica.
10. **In tutte le procedure di analisi immunocromatografiche, risultati falso-positivi sono associabili con maggiori probabilità a linee di analisi scarsamente visibili o tenui, anziché linee di analisi fortemente positive. Come per qualsiasi procedura diagnostica, i risultati delle analisi Tru RSV vanno usati in concomitanza con altri test e con il quadro clinico completo del paziente.**

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Studi clinici sono stati condotti per valutare le prestazioni del Tru RSV nei laboratori e nei confronti delle colture tissutali. Quattro laboratori indipendenti in differenti zone geografiche degli Stati Uniti e il laboratorio del produttore hanno analizzato un totale di 625 campioni di pazienti sintomatici di età inferiore a cinque anni, ricevuti per la ricerca su RSV. Trecentoquattro campioni sono stati raccolti durante la stagione 2006-2007 e analizzati come campioni freschi, e 321 sono stati analizzati come campioni congelati/scongelati. I campioni congelati erano stati raccolti durante la stagione 2006-2007 e stagioni precedenti, e analizzati con coltura tissutale prima del congelamento. I campioni erano equamente distribuiti tra maschi e femmine. I campioni che hanno prodotto risultati discrepanti con RSV e la coltura tissutale sono stati rianalizzati per coltura, fluorescenza diretta su vetrino (DSFA) o mediante PCR. I campioni che hanno prodotto risultati RSV positivi dopo un'ulteriore analisi per coltura, DSFA o PCR sono indicati nelle note sotto le tabelle seguenti.

Tabella 1. Dati su Tru RSV per tipo di campione

Lavaggio/Aspirato Fresco		Tru RSV**		
Coltura	Positivo	Negativo	Totale	
Positivo	64	8	72	
Negativo	21*	90	111	
Totale	85	98	183	
			95% CI	
Sensibilità	64/72	88,9%	79,3-95,1%	
Specificità	90/111	81,1%	73,8-88,4%	
Correlazione	154/183	84,2%	78,9-89,4%	

* Dei 21 campione risultati falso-positivi con Tru RSV, tre sono risultati positivi anche per DSFA

** 1 test invalido per Tru RSV

Tampone Fresco		Tru RSV		
Coltura	Positivo	Negativo	Totale	
Positivo	12	1	13	
Negativo	7*	100	107	
Totale	19	101	120	
			95% CI	
Sensibilità	12/13	92,3%	64,0-99,8%	
Specificità	100/107	93,5%	87,0-97,3%	
Correlazione	112/120	93,3%	87,3-97,1%	

* Dei sette campioni risultati falso-positivi con Tru RSV, quattro sono risultati positivi con PCR

Lavaggio/Aspirato Congelato		Tru RSV		
Coltura	Positivo	Negativo	Totale	
Positivo	79	9	88	
Negativo	12*	149	161	
Totale	91	158	249	
			95% CI	
Sensibilità	79/88	89,8%	81,5-95,2%	
Specificità	149/161	92,5%	87,3-96,1%	
Correlazione	228/249	91,6%	87,4-94,7%	

* Dei 12 campioni risultati falso-positivi con Tru RSV, due sono risultati positivi anche perDSFA

Tampone Congelato		Tru RSV		
Coltura	Positivo	Negativo	Totale	
Positivo	33	13	46	
Negativo	1	25	26	
Totale	34	38	72	
			95% CI	
Sensibilità	33/46	71,7%	56,5-84,0%	
Specificità	25/26	96,2%	80,4-99,9%	
Correlazione	58/72	80,6%	69,5-88,9%	

NOTA: Come indicato nella tabella 1, le prestazioni Caratteristiche generate dallo studio prospettico con campioni congelati potrebbero essere differenti da quelle con lo studio prospettico su campioni freschi

Tabella 2. Distribuzione dei risultati in base al sito

Campione Fresco Lavaggio/Aspirato		Campioni positivi			Campioni negativi		
ID del sito	Tru/Cultura	Sensibilità %	95% CI		Tru/Cultura	Specificità %	95% CI
1	7/8	87,5%	47,3-99,7%		31/45	68,9%	53,4-81,8%
2	3/3	100%	29,2-100%		2/2	100%	15,8-100%
4	54/61	88,5%	77,8-95,3%		57/64	89,1%	78,8-95,5%
Campione Congelato Lavaggio/Aspirato		Campioni positivi			Campioni negativi		
ID del sito	Tru/Cultura	Sensibilità %	95% CI		Tru/Cultura	Specificità %	95% CI
2	5/5	100%	47,8-100%		0/0	N/A	N/A
3	40/47	85,1%	71,7-93,8%		112/122	91,8%	85,4-96,0%
4	34/36	94,4%	81,3-99,3%		37/39	94,9%	82,7-99,4%
Tampone Fresco		Campioni positivi			Campioni negativi		
ID Del sito	Tru/Cultura	Sensibilità %	95% CI		Tru/Cultura	Specificità %	95% CI
2	8/9	88,9%	51,8-99,7%		11/15	73,3%	44,9-92,2%
4	3/3	100%	29,2-100%		37/37	100%	90,5-100%
5	1/1	N/A	N/A		53/55	96,4%	87,5-99,6%
Tampone Congelato		Campioni positivi			Campioni negativi		
ID del sito	Tru/Cultura	Sensibilità %	95% CI		Tru/Cultura	Specificità %	95% CI
2	1/1	100%	N/A		2/2	100%	15,8-100%
3	27/39	69,2%	52,4-83,0%		14/15	93,3%	68,0-99,8%
4	5/6	83,3%	35,9-99,6%		9/9	100%	66,4-100%

SENSIBILITÀ ANALITICA

La sensibilità analitica di questo test è stata stabilita mediante diluizioni seriali di tre ceppi RSV A (VR-26, VR-1302, VR-1540) e tre ceppi RSV B (VR-955, VR-1400, VR-1401). Il Limite inferiore di rilevazione (vedi tabella sottostante), dipende da diversi fattori, come la linea cellulare usata, il numero di passaggi effettuati, l'efficienza del metodo di isolamento. Per queste ragioni, il limite di rilevazione del test, può variare se si analizzano ceppi o campioni differenti.

ID ceppo	Ceppo	Limite di rilevazione (LOD)
VR-26	A	2,49 x 10 ²
VR-1302	A	4,47
VR-1540	A	5,52 x 10 ¹
VR-955	B	4,47
VR-1400	B	1,10 x 10 ¹
VR-1401	B	2,47

RIPRODUCIBILITÀ

La precisione del test, la variabilità intra-analisi ed inter-analisi sono state valutate con un pannello di riferimento preparato con un pool di campioni negativi a cui sono stati aggiunti i virus specifici. Il pannello per la riproducibilità consisteva in campioni altamente positivi, (n=2), debolmente negativi (n=2), debolmente positivi (n=3) ed altamente negativi (n=3). Questi ultimi preparati vicino al limite di sensibilità del test. Ogni campione è stato valutato due volte al giorno per tre giorni consecutivi in tre differenti laboratori. La riproducibilità del test è risultata del 100% con nessuna variabilità intra-analisi ed inter-analisi per i campioni preparati appena sopra o sotto il limite di sensibilità del test.

CROSS REATTIVITÀ

La specificità di Tru RSV è stata verificata utilizzando i seguenti ceppi batterici, virali e ceppi di lieviti. Campioni respiratori positivi e negativi per RSV sono stati addizionati con $\geq 4 \times 10^7$ /mL di batteri o di lievito. Le inoculazioni virali sono state eseguite a $\geq 5,3 \times 10^2$ TCID₅₀ o CEID₅₀/mL. Nessuno dei microorganismi analizzati ha prodotto un risultato positivo con i campioni RSV-negativi, né ha interferito con il rilevamento dell'RSV nei campioni positivi. Sia i campioni respiratori negativi che quelli positivi sono risultati positivi quando sono stati addizionati con il ceppo di RSV A VR-26.

Adenovirus tipo 1, 5 e 7A, virus coxsackie tipo A9, Coronavirus umano Tipo 229E e OC43, Citomegalovirus, influenza A (2 ceppi), influenza B (1 ceppo), Metapneumovirus Umano, Morbillo, Parainfluenza tipo 1, 2 e 3, Rinovirus tipo 39, Echovirus tipo 32, Herpes Simplex tipo 2, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Branhamella catarrhalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquifaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (non tipizzato), *Streptococcus* Groups A, B, D, F, e G, *Streptococcus pneumoniae*.

Un campione clinico contenente virus Epstein Barr alla concentrazione di 2,32 x 10⁸ genomi equivalenti/mL è risultato non reattivo con Tru RSV.

ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI

Le seguenti sostanze, se introdotte direttamente nei campioni nasali, non interferiscono con le analisi alle concentrazioni indicate: acetaminofene (10 mg/mL), acido acetilsalicilico (20 mg/mL), albuterolo (9,1% v/v), pasticche per la gola Halls® (20 mg/mL), pasticche per la gola Ludens® (20 mg/mL), clorfeniramina maleato (1,7 mg/mL), clemastina fumarato (5 mg/mL), difenidramina HCl (5 mg/mL), destrometorfano (9,1% v/v), naproxen sodio (10 mg/mL), fenilefrina cloridrato (9,1% v/v), ossimetazolina (9,1% v/v), guaifenesina (9,1% v/v), pseudoefedrina HCl (20 mg/mL), collutorio Listerine® (9,1% v/v).

Il sangue intero a concentrazioni maggiori di 2,9% ha interferito con l'interpretazione dei risultati. La clorfeniramina maleato a concentrazioni maggiori di 1,7 mg/mL potrebbe dar adito a risultati falso-positivi.



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,977S B2)

**Test immunologique rapide pour la détection des antigènes du virus respiratoire syncytial (VRS)
dans des échantillons provenant d'un lavage nasal, d'un aspiré nasopharyngien, d'un écouvillonnage nasal ou nasopharyngien.**

REF 751330

IVD

Rx Only

BUT DE LA METHODE

Le test Tru RSV est un immunodosage rapide, qualitatif et à flux latéral, destiné à la détection des antigènes du virus respiratoire syncytial (VRS ; en anglais RSV, *Respiratory Syncytial Virus*) (protéine de fusion ou nucléoprotéine^{1, 2}) dans des échantillons humains provenant d'un lavage nasal, d'un aspiré nasopharyngien ou d'un écouvillonnage nasal ou nasopharyngien. Le test est prévu pour être utilisé par les laboratoires médicaux pour tester les échantillons provenant de patients symptomatiques âgés de cinq ans ou moins. Un résultat négatif n'exclut pas une infection par le VRS. Il est recommandé de confirmer tous les résultats de test négatifs par une culture cellulaire. Les résultats de ce test doivent être utilisés en conjonction avec les données cliniques et condition du patient pour diagnostiquer une infection associée à la VRS.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le virus respiratoire syncytial (VRS) est la cause la plus importante de pneumonie et de bronchite chez les nourrissons et les petits enfants. Aux seuls États-Unis, on attribue environ 90,000 enfants hospitalisés chaque année à cause du VRS.³ L'hospitalisation due au VRS est plus souvent associée aux enfants qui ont une maladie sous-jacente ou qui sont nés prématurément.⁴ Les taux de mortalité pour les enfants hospitalisés atteints du VRS sont estimés entre 1 et 3 %.³ Le VRS est aussi de plus en plus reconnu comme étant une cause significative de maladie respiratoire chez les personnes âgées.⁵ Le VRS cause une large panoplie de symptômes respiratoires qui peuvent être difficiles à distinguer cliniquement des symptômes causés par d'autres virus respiratoires tels que la grippe.³ Le virus respiratoire syncytial, à cause de son pouvoir infectant élevé, du potentiel d'élimination prolongée par le patient et de sa capacité à survivre pendant des heures sur des surfaces dans l'environnement, émerge comme une cause sérieuse d'infection nosocomiale.^{3, 6} Le VRS peut être détecté dans des échantillons respiratoires humains par une variété de techniques, y compris une culture tissulaire, un dosage immunofluorescent et un dosage immunoenzymatique. Bien que la culture tissulaire soit encore considérée comme le test de diagnostic standard, elle requiert des installations de culture tissulaire et peut durer une semaine. Les tests immunofluorescents basés sur les anticorps sont raisonnablement sensibles ; cependant, ils dépendent beaucoup de la qualité et de la préparation de l'échantillon. Les dosages immunoenzymatiques et immunologiques basés sur les microparticules sont parmi les méthodes les plus fréquemment employées pour la détection du VRS.⁶ Le test Tru RSV est un dosage immunologique à flux latéral pour la détection rapide du VRS dans des échantillons respiratoires humains. Les résultats de ce test sont utilisés pour soutenir les données disponibles de l'évaluation clinique du patient et aider le médecin à déterminer l'action à suivre.

PRINCIPE DU TEST

Le test Tru RSV est un immunodosage de capture, destiné à détecter l'antigène du VRS dans les échantillons humains. Il est à usage unique. Le test comprend un tube de conjugué, une bandelette réactive et un diluant pour échantillon. Le tube de conjugué contient une bille, lyophilisat d'anticorps monoclonaux conjugués à de l'or colloïdal ; ces anticorps sont dirigés contre les protéines de fusion et nucléoprotéines du VRS (anticorps de détection). La bandelette réactive est faite d'une membrane en nitrocellulose sur laquelle sont immobilisés les anticorps de capture sur une ligne de test pour le VRS. Le porte-bandelette sert à boucher le tube de conjugué pendant le test, puis lors de la mise au rebut, réduisant ainsi une exposition aux pathogènes potentiels.

La bille de conjugué est d'abord réhydratée dans le tube avec le diluant pour échantillon. L'échantillon du patient est alors ajouté et le contenu du tube est bien mélangé. La bandelette réactive est ensuite introduite dans le mélange. Si les antigènes du VRS sont présents, ils se lient tout d'abord au conjugué anticorps monoclonal-or colloïdal. Lorsque l'échantillon migre vers le haut de la bandelette réactive et atteint la ligne de test, le complexe antigènes-conjugué se lie à l'anticorps de capture, faisant apparaître une ligne rose-rouge. Lorsqu'aucun antigène n'est présent, aucun complexe ne se forme et aucune ligne rose-rouge n'apparaît au niveau de la ligne de test. Une ligne de contrôle interne permet de déterminer si le flux a bien traversé la bandelette réactive durant le dosage. Une ligne rose-rouge visible doit être présente au niveau de la ligne de contrôle chaque fois qu'un échantillon ou un contrôle est testé. Si aucune ligne de contrôle rose-rouge n'est visible, le test est considéré non valide.

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

- Bandelette réactive** : bandelette réactive fixée sur un support en plastique et emballée dans une pochette en aluminium avec un dessiccateur. La ligne de test de la bandelette réactive contient des anticorps monoclonaux de capture anti-VRS (dirigés contre les protéines de fusion et nucléoprotéines^{1, 2}). Le porte-bandelette est utilisé comme capuchon pour le tube de conjugué. Sur le cadre du support porte-bandelette se trouvent des repères indiquant où les lignes de test et de contrôle doivent apparaître. Conserver la pochette entre 2 et 25 °C lorsqu'elle n'est pas utilisée. Ne pas utiliser le dispositif si l'indicateur du dessiccateur (ligne au centre du dessiccateur) vire du bleu au rose.
- Tube de conjugué** : tube en plastique bouché contenant une bille de conjugué. Le tube est emballé dans une pochette en aluminium. Le conjugué consiste en de l'or colloïdal conjugué à des anticorps anti-VRS (dirigés contre les protéines de fusion et nucléoprotéines) qui servent d'anticorps de détection. Conserver la pochette en aluminium entre 2 et 25 °C lorsqu'elle n'est pas utilisée. Ne pas conserver au congélateur. Ne pas enlever le capuchon avant utilisation.
- Diluant pour échantillon/contrôle négatif** : solution protéique tamponnée et présentée dans un flacon en plastique. Contient de l'azote de sodium (0,094 %) comme conservateur. Le réactif est prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 25 °C entre les utilisations.
- Pipettes de transfert en plastique comportant trois repères : 100, 200 et 300 µL (voir diagramme ci-dessous).
- Étiquettes « Tru RSV » pour les tubes de conjugué destinés au test Tru RSV afin de faire la distinction entre les tubes de conjugué pour les autres tests Tru.

MATERIEL NON FOURNI

- Gants jetables en latex (les échantillons respiratoires sont considérés comme une matière biologique potentiellement dangereuse).
- Vortex pour la mise en suspension de l'échantillon dans le diluant pour échantillon (optionnel)
- Minuteur
- Contrôle positif RSV de Meridian Bioscience (Référence du catalogue 751110). Virus inactivés du VRS, des grippes A et B dans une solution tamponnée contenant de l'azote de sodium (0,094 %) comme conservateur. Le réactif est prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 8 °C lorsqu'il n'est pas utilisé. (Ce contrôle externe est vendu séparément).
- Crayon feutre

PRECAUTIONS D'EMPLOI

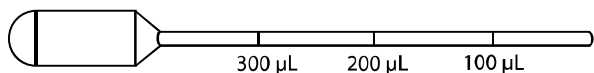
1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Ne pas utiliser les réactifs si la date de péremption est dépassée.
3. Les bandelettes réactives et les tubes de conjugué sont emballés sous pochette en aluminium qui exclut l'humidité durant le stockage. Inspecter chaque pochette avant de l'ouvrir. Ne pas utiliser les bandelettes réactives ou les tubes de conjugué si leur pochette est trouée ou si elle n'est pas été complètement scellée. Ne pas utiliser la bandelette réactive si l'indicateur du dessiccateur a viré du bleu au rose. Si l'indicateur a changé de couleur, cela indique que le dispositif de test ou le tube de conjugué a été exposé à l'humidité. Une exposition à l'humidité des bandelettes réactives ou des tubes de conjugué peut entraîner des réactions faussement négatives.
4. Ne pas utiliser le tampon de diluant pour échantillon s'il a changé de couleur ou est trouble. La décoloration ou la turbidité peut être un signe de contamination microbienne.
5. Lire et suivre les instructions avec soin.
6. Tenir le flacon de réactif de contrôle positif à la verticale lors de la distribution pour s'assurer que les gouttes aient une taille correcte et qu'elles soient distribuées régulièrement.
7. Certains échantillons de patients contiennent des agents infectieux, aussi faut-il manipuler tous les échantillons et les éliminer comme s'ils étaient biologiquement dangereux.
8. Le contrôle positif RSV de Meridian (vendu comme réactif séparé) contient les antigènes inactivés du VRS et de la grippe et doit être manipulé comme étant potentiellement infectieux. Ce réactif contient de l'azoture de sodium (0,094 %) comme conservateur. Ce composant est irritant pour la peau. Éviter le contact avec peau. L'élimination des réactifs contenant de l'azoture de sodium dans les canalisations de plomb ou de cuivre peut entraîner la formation d'oxydes de métal explosifs. L'accumulation de ces oxydes est évitée en rinçant les canalisations à grandes eaux.
9. Tous les échantillons respiratoires doivent être bien mélangés, quelle que soit leur consistance, pour assurer un échantillon représentatif avant de procéder à l'analyse.
10. Si les échantillons et les réactifs n'ont pas atteint la température ambiante (20-25 C) avant l'analyse, la sensibilité du dosage peut s'en trouver diminuée.
11. Les antigènes du virus respiratoire syncytial sont relativement instables. Prendre soin de bien conserver les échantillons comme indiqué dans ce document. Même lorsque les échantillons sont conservés congelés, le taux de détérioration des antigènes varie d'un échantillon à l'autre et ne peut être prédit. Examiner avec circonspection les résultats négatifs obtenus pour des échantillons congelés depuis plus de deux semaines à ≤ -20 C, car ces résultats pourraient être faussement négatifs.
12. Les échantillons d'écouvillonnage peuvent être transportés dans 0,5 à 3 mL d'un milieu de transport approuvé. Si le volume de transport est de 0,5 à 1,5 mL les réactions positives peuvent être plus fortes.
13. Le diluant pour échantillon doit être ajouté au tube de conjugué dans la minute qui suit le débouchage du tube.

DANGER ET MISES EN GARDE

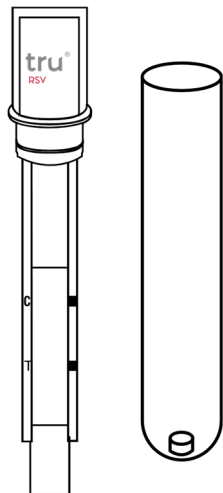
A notre connaissance, il n'y a pas de risque connu associé à ce produit.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE

Ci-dessous, un schéma de la pipette de transfert Tru RSV.



Ci-dessous, un schéma de la bandelette réactive et du tube de conjugué Tru RSV.



PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Attention : le sang total à des concentrations supérieures à 2,9% peut entraîner des résultats faussement positifs. Ne pas tester des échantillons contaminés de façon évidente par le sang.

1. Les échantillons doivent être prélevés et transportés dans des récipients standards et conservés entre 2 et 8 C jusqu'au moment de l'analyse. L'échantillon doit être analysé le plus tôt possible, mais peut être conservé jusqu'à 72 heures entre 2 et 8 C avant l'analyse. Si le test ne peut être effectué dans les 72 heures, les échantillons doivent être congelés dès réception et conservés congelés (≤ -20 C) un maximum de deux semaines jusqu'au moment de l'analyse. (Voir la section PRECAUTIONS.) Un seul cycle de congélation/décongélation n'influe pas sur les résultats du test.
2. Les milieux de transport liquide suivants conviennent au prélèvement des échantillons :
Milieux de transport : milieux M4, M4-RT, M5, UTM-RT, milieu de Stuart, solution saline équilibrée de Hank, milieu d'Amies, solution tampon de phosphate de Dulbecco, solution saline à 0,85 %, milieu de transport viral de Meridian (Référence du Catalogue 505021). Le volume du milieu de transport ne doit pas dépasser les 3 mL sous peine d'entraîner des résultats faussement négatifs dus à la dilution de l'échantillon.
Écouvillons (écouvillon/poignée) : coton/plastique, rayonne/plastique, nylon floqué/plastique, mousse/plastique, polyester/métal, polyester/plastique, rayonne/métal, coton/métal.
Ne pas utiliser des écouvillons avec de l'alginate de calcium. Ce produit chimique diminue les réactions positives. Procéder au test endéans les 60 minutes pour les échantillons frais collectés par écouvillonnage à manche plastique ou immédiatement pour les écouvillons à manche métallique. Si le test ne peut être effectué dans ce laps de temps, placer l'écouvillonnage dans un milieu de transport validé.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Amener tous les échantillons et réactifs à température ambiante (20-25 C) avant le test.

Échantillons de lavage nasal, d'aspirats nasopharyngiens et d'écouvillonnage dans un milieu de transport :

1. Retirer un tube de conjugué de sa pochette en aluminium et jeter la pochette. Inscrive le nom du patient sur le tube. Appliquer une étiquette Tru RSV sur le tube.
2. Retirer et jeter le capuchon du tube de conjugué.
3. A l'aide de la pipette de transfert fournie avec le coffret, ajouter immédiatement 100 µL (1^{er} repère à partir de l'extrémité de la pipette) de diluant pour échantillon au tube de conjugué. Ajouter le diluant directement au centre du tube. Passer au vortex ou agiter par rotation le contenu du tube de conjugué pendant 10 secondes.
Attention : des erreurs de dilution peuvent influencer sur les performances du test. L'ajout d'une quantité insuffisante d'échantillon respiratoire au diluant pour échantillon peut entraîner un faux négatif. Omettre d'ajouter le volume requis de diluant pour échantillon peut entraîner des résultats faussement positifs. L'ajout d'une quantité excessive d'échantillon peut produire des résultats de test non-valides du fait de la restriction du flux de l'échantillon.
4. Bien mélanger l'échantillon quelle que soit sa consistance. A l'aide de 1 des pipettes de transfert fournies avec le coffret, bien mélanger doucement l'échantillon en pressant sur la poire de la pipette 3 fois. On peut aussi mélanger l'échantillon en le passant au vortex pendant au moins 10 secondes.
5. A l'aide de la même pipette, aspirer 100 µL d'échantillon (1^{er} repère à partir de l'extrémité de la pipette) et les ajouter au tube de conjugué.
6. A l'aide de la même pipette, bien mélanger doucement l'échantillon et le conjugué en pressant sur la poire de la pipette 3 fois. On peut aussi mélanger l'échantillon en le passant au vortex pendant au moins 10 secondes. Jeter la pipette.

Echantillons d'écouvillonnage nasal et nasopharyngien prélevés sans milieu de transport :

REMARQUE : il est recommandé d'utiliser des écouvillons à manche en plastique d'une matière absorbante telle que nylon floqué ou mousse pour le prélèvement sans milieu de transport.

1. Retirer un tube de conjugué de sa pochette en aluminium et jeter la pochette. Inscrire le nom du patient sur le tube. Appliquer une étiquette Tru RSV sur le tube.
2. Retirer et jeter le capuchon du tube de conjugué.
3. A l'aide de la pipette de transfert fournie avec le coffret, ajouter immédiatement 300 µL (3^e repère à partir de l'extrémité de la pipette) de diluant pour échantillon au tube de conjugué. Ajouter le diluant directement au centre du tube. Mélanger manuellement le contenu du tube de conjugué par rotation ou passer au vortex pendant 10 secondes. Pour les échantillons extrêmement visqueux, on peut ajouter jusqu'à 500 µL de diluant pour échantillon. [Pour distribuer 500 µL avec la pipette de transfert fournie avec le coffret, aspirer et délivrer 300 µL (3^e repère à partir de l'extrémité de la pipette) dans le tube de conjugué. A l'aide de la même pipette, aspirer et délivrer 200 µL supplémentaires (2^e repère à partir de l'extrémité de la pipette) dans le même tube de conjugué.]
Attention : des erreurs de dilution peuvent influencer sur les performances du test. L'ajout d'une quantité insuffisante d'échantillon respiratoire au diluant pour échantillon peut entraîner un faux négatif. Omettre d'ajouter le volume requis de diluant pour échantillon peut entraîner des résultats faussement positifs. L'ajout d'une quantité excessive d'échantillon peut produire des résultats de test non-valides du fait de la restriction du flux de l'échantillon.
4. Tremper l'écouvillon dans le tube de conjugué et le faire tourner 3 fois dans le liquide. Presser l'écouvillon contre la paroi interne du tube tout en le retirant pour en extraire le plus possible de liquide. Jeter l'écouvillon.

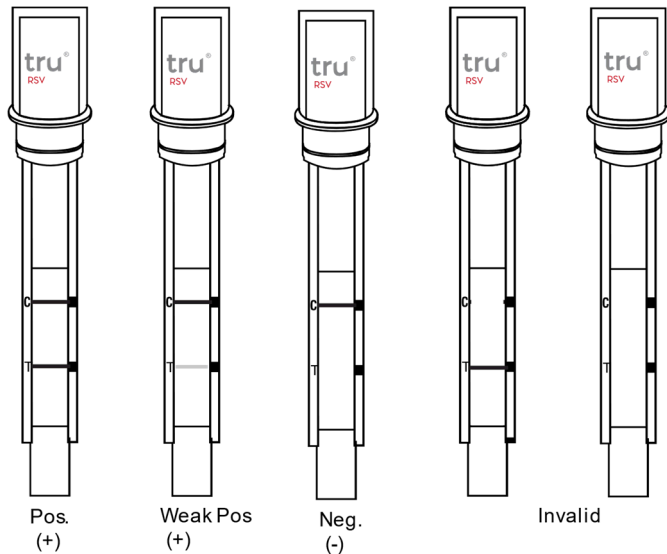
PROCEDURE DE TEST

1. Retirer une bandelette réactive de sa pochette en aluminium et jeter la pochette.
2. Insérer l'extrémité étroite de la bandelette réactive dans le tube de conjugué et bien appuyer sur le capuchon pour fermer le tube.
3. Incuber entre 20 et 25 C pendant 15 minutes.
4. Lire les résultats sur la bandelette réactive dans la minute qui suit. Ne pas lire les résultats au-delà du temps recommandé. (REMARQUE : retirer la bandelette réactive du tube de conjugué s'il est difficile de lire les lignes de test ou de contrôle. Reboucher le tube de conjugué avec le porte-bandelette et jeter le tout une fois le test fini.)

TESTS DE CONTROLE EXTERNE

1. Amener tous les éléments de test, les réactifs et les échantillons à température ambiante (20-25 C) avant le test.
2. Utiliser 1 tube de conjugué et 1 bandelette réactive pour le test de contrôle positif et 1 tube de conjugué et 1 bandelette réactive pour le test de contrôle négatif.
3. Retirer les tubes de conjugué de leur pochette en aluminium et les étiqueter comme il se doit. Jeter les pochettes.
4. Retirer et jeter les capuchons des tubes de conjugué.
5. Ajouter exactement 5 gouttes de réactif de contrôle positif au tube de conjugué étiqueté pour le contrôle positif. Ajouter les gouttes directement au centre du tube.
6. A l'aide de 1 des pipettes de transfert fournies avec le coffret, ajouter 200 µL (2^e repère à partir de l'extrémité de la pipette) de diluant pour échantillon/contrôle négatif au tube de conjugué étiqueté pour le contrôle négatif. Ajouter les gouttes directement au centre du tube.
7. Passer au vortex ou agiter par rotation le contenu des tubes pendant 10 secondes.
8. Retirer 2 bandelettes réactives de leur pochette en aluminium et jeter les pochettes.
9. Insérer l'extrémité étroite d'une bandelette réactive dans chaque tube de conjugué et bien appuyer sur le capuchon pour fermer chaque tube.
10. Incuber les deux tubes entre 20 et 25 C pendant 15 minutes.
11. Lire les résultats sur la bandelette réactive dans la (1) minute qui suit. Ne pas lire les résultats au-delà du temps recommandé. (REMARQUE : retirer la bandelette réactive du tube de conjugué s'il est difficile de lire les lignes de test ou de contrôle. Reboucher le tube de conjugué avec le porte-bandelette et jeter une fois le test fini.)

INTERPRETATION DES RESULTATS



Test négatif : une bande ROSE-ROUGE au niveau de la ligne de contrôle. Aucune autre bande n'apparaît.

Test positif : une bande ROSE-ROUGE apparaît au niveau des lignes de contrôle et de test. La couleur de la ligne de test peut être plus claire que celle de la ligne de contrôle. Les lignes de test peuvent être soit très visible, soit à peine visible.

Test faiblement positif : une bande ROSE-ROUGE apparaît au niveau de la ligne de contrôle et une autre bande apparaît au niveau de la ligne de test RSV, cette dernière est cependant à peine visible (comparée à la ligne de test « faiblement positif », son intensité est égale ou inférieure à celle de la bande ROSE-ROUGE illustrée dans la carte procédurale). L'interprétation de ces lignes de test Tru RSV faiblement positif doit se faire avec circonspection puisque des résultats de test faiblement positif peuvent représenter des tests faussement positifs. Lors d'essais cliniques du Tru RSV, 35 % (23/66) des tests faiblement positifs se sont avérés être des tests faussement positifs après comparaison avec les résultats obtenus par culture tissulaire. (Voir aussi la section LIMITES DE LA PROCEDURE). Les tests faiblement positifs doivent être présumés positifs et doivent être confirmés par culture tissulaire ou par un test direct aux anticorps fluorescents.

Résultats de test non valides :

1. Aucune bande au niveau de la ligne de contrôle. Le test est non valide puisque l'absence de la bande au niveau de la ligne de contrôle indique une réalisation incorrecte du test ou une détérioration des réactifs.
2. Une bande ROSE-ROUGE apparaissant au niveau de la ligne de test du dispositif après 16 minutes d'incubation ou une bande d'une couleur autre que ROSE-ROUGE apparaît. Des résultats faussement positifs peuvent être obtenus si le test incube trop longtemps. Les bandes d'une couleur autre que ROSE-ROUGE peuvent indiquer une détérioration des réactifs.

S'il est difficile d'interpréter un résultat, refaire le test avec le même échantillon pour éliminer le potentiel d'erreur. Prélever un nouvel échantillon et tester de nouveau si l'échantillon original donne de façon répétée des résultats non lisibles.

RENDU DES RESULTATS

Test négatif : rapporter les résultats en tant qu' « Antigènes du VRS non détectés. Ce résultat négatif n'exclut pas une infection virale. Les tests négatifs sont à confirmer par culture tissulaire. »

Test positif pour le VRS : rapporter le résultat en tant que « Positif pour les antigènes du VRS. Ce résultat n'exclut pas une co-infection par d'autres pathogènes. »

CONTROLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

A chaque utilisation, les éléments du coffret doivent être examinés visuellement pour tout signe évident de contamination microbienne, congélation ou fuite. Ne pas utiliser des réactifs contaminés ou suspects.

Contrôles procéduraux internes : des contrôles procéduraux internes sont contenus dans la bandelette réactive et sont donc évalués à chaque test.

1. Une bande ROSE-ROUGE qui apparaît au niveau de la ligne de contrôle sert de contrôle procédural. Elle indique que le test a été effectué correctement, que l'échantillon a été ajouté, que la migration s'est réalisée correctement et que les réactifs étaient actifs au moment de leur utilisation.
2. Un fond clair autour des lignes de contrôle ou de test sert de contrôle procédural. Un fond qui empêche de lire les résultats rend le test non valide et indique une détérioration des réactifs, une quantité inappropriée d'échantillon ou une performance incorrecte du test.

Les réactifs de contrôles externes doivent être testés selon les exigences du laboratoire ou des réglementations locales et/ou nationales ou des organismes d'accréditation.

1. Voir la section TESTS DE CONTROLE EXTERNE pour des explications concernant l'exécution de ces tests de contrôle.
2. La réactivité de chaque nouveau lot et de chaque coffret Tru RSV nouvellement livré doit être vérifiée lors de sa réception en utilisant les contrôles positifs et négatifs externes. Le nombre de tests supplémentaires à effectuer avec les contrôles externes est déterminé d'après les exigences des réglementations locales, nationales ou des organismes d'accréditation.
3. Les contrôles externes sont utilisés pour surveiller la réactivité des réactifs. Si les contrôles ne produisent pas les résultats attendus, cela peut signifier qu'un des réactifs ou des éléments n'est plus réactif au moment de son utilisation, que le test n'a pas été effectué correctement ou que les réactifs ou échantillons n'ont pas été ajoutés. Si les contrôles ne produisent pas les résultats attendus, ne pas rapporter les résultats de test au clinicien.
4. Les résultats attendus pour les contrôles sont décrits dans la section INTERPRETATION DES RESULTATS.

Ne pas utiliser le coffret si les tests de contrôle ne produisent pas les résultats corrects. **La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.**

Les réactifs de contrôle positif et négatif fabriqués pour ce dosage sont préparés dans la matrice du diluant pour échantillon ; cette préparation peut être considérée comme différente de celle des échantillons de test. Si des contrôles de composition identique aux échantillons testés sont préférés, l'utilisateur peut les préparer en diluant des échantillons positifs et négatifs connus dans le diluant pour échantillon selon la section PREPARATION DES ECHANTILLONS de cette notice.

VALEURS ATTENDUES

Le taux de positifs de chaque laboratoire est dépendant de plusieurs facteurs tels que la méthode de prélèvement de l'échantillon, la manutention et le transport de l'échantillon, l'époque de l'année, l'âge du patient et la prévalence du VRS au moment du dosage. Les 'Centers for Disease Control' (CDC) rapportent que les poussées épidémiques de VRS surviennent annuellement et normalement à la fin de l'automne, en hiver et au printemps. L'occurrence et la sévérité d'une poussée épidémique dans une communauté varie d'une année à l'autre. La prévalence de l'infection par le VRS aux Etats-Unis rapportée par les CDC durant les essais pour le Tru RSV (effectués de décembre 2006 à mars 2007) allait d'environ 15 % à son plus haut niveau en décembre à environ 4 % à son plus bas niveau en mars. Les taux de prévalence mensuels des sites des essais cliniques, en se basant sur les résultats des échantillons prospectifs prélevés au hasard, s'élevaient à 43 % pour décembre, 37 % pour janvier, 7 % pour février et 5 % pour mars.

LIMITES DU TEST

1. Le test est de nature qualitative et ne permet pas d'interprétation quantitative. Aucune interprétation basée sur l'intensité de la ligne positive ne doit être faite lors du rapport des résultats.
2. La performance du test Tru RSV n'a pas été établie pour des patients âgés de plus de cinq ans.
3. Les résultats des tests doivent être interprétés en fonction des informations disponibles de l'évaluation clinique du patient et d'autres démarches diagnostiques.
4. L'incubation trop longue des tests peut produire des faux positifs. L'incubation des tests à une température trop froide ou pendant un temps insuffisant peut produire des faux négatifs.
5. Les propriétés potentiellement interférentes des agents antimicrobiens, antiviraux et des interférons n'ont pas été évaluées.
6. Le test Tru RSV détecte aussi bien le VRS viable que non viable. L'apparence des tests Tru RSV positifs dépend de la charge de l'antigène du VRS dans l'échantillon; par conséquent un test Tru RSV positif peut ne pas corrélérer avec les résultats obtenus pour le même échantillon par culture tissulaire.
7. Les anticorps utilisés pour ce test peuvent ne pas détecter toutes les variantes antigéniques ou les nouvelles souches du VRS.
8. Un résultat négatif n'exclut pas une infection par le VRS comme il n'exclut pas aussi d'autres infections respiratoires d'origine microbienne. Un résultat positif n'écarte pas la possibilité d'une coinfection par d'autres microbes.
9. Les écouvillonnages secs ne sont pas aussi stables que ceux préservés dans un milieu de transport. De plus, des études en interne ont montré qu'une détérioration est plus rapide avec les écouvillons à manche métallique que plastique.
10. **Comme pour tous les dosages immunoenzymatiques, des lignes de test à peine visibles ou faibles ont plus de chance de s'avérer faussement positives que des lignes de test qui sont fortement positives. Comme avec toute procédure diagnostique, le résultat d'un test Tru RSV doit être interprété en fonction d'autres tests disponibles et du tableau clinique du patient.**

PERFORMANCES DU TEST

Des études cliniques ont été réalisées pour la détermination de la performance du Tru RSV en laboratoire en comparaison à la culture tissulaire. Quatre laboratoires indépendants (dans des régions géographiquement distinctes des Etats-Unis) et le laboratoire du producteur ont testé un total de 625 échantillons de patients symptomatiques âgés de moins de cinq ans soumis pour un dosage VRS. Trois cent quatre de ces échantillons ont été prélevés durant la saison 2006-2007 et testés frais, tandis que 321 ont été testés congelés/décongelés. Les échantillons congelés ont été prélevés durant la saison 2006-2007 et durant les saisons antérieures, puis testés par culture tissulaire avant d'être congelés. Les échantillons provenaient tant d'hommes que de femmes de façon égale. Les échantillons dont les résultats Tru RSV étaient différents de ceux obtenus en culture tissulaire ont été testés par immunofluorescence directe (Direct Specimen Fluorescent Assay, DSFA) ou par réaction en chaîne par polymérase (PCR en anglais). Les échantillons qui se sont avérés positifs pour le VRS par DSFA ou PCR sont indiqués par un astérisque dans les tableaux suivants.

Tableau 1. Résultats du test Tru RSV distribués par type d'échantillon

Lavage/Aspirate frais		Tru RSV**		
Culture	Positif	Négatif	Total	
Positif	64	8	72	
Négatif	21*	90	111	
Total	85	98	183	
			IC à 95%	
Sensibilité	64/72	88,9%	79,3-95,1%	
Spécificité	90/111	81,1%	73,8-88,4%	
Corrélation	154/183	84,2%	78,9-89,4%	

* Des 21 Tru RSV résultats faussement positifs, trois étaient positifs par DSFA

** Un Tru RSV non-valide

Ecouvillonnage frais		Tru RSV		
Culture	Positif	Négatif	Total	
Positif	12	1	13	
Négatif	7*	100	107	
Total	19	101	120	
			IC à 95%	
Sensibilité	12/13	92,3%	64,0-99,8%	
Spécificité	100/107	93,5%	87,0-97,3%	
Corrélation	112/120	93,3%	87,3-97,1%	

* Des sept résultats Tru RSV faussement positifs, quatre étaient positifs par PCR

Lavage/Aspirate congelé		Tru RSV		
Culture	Positif	Négatif	Total	
Positif	79	9	88	
Négatif	12*	149	161	
Total	91	158	249	
			IC à 95%	
Sensibilité	79/88	89,8%	81,5-95,2%	
Spécificité	149/161	92,5%	87,3-96,1%	
Corrélation	228/249	91,6%	87,4-94,7%	

* Des 12 résultats Tru RSV faussement positifs, deux étaient positifs par DSFA

Ecouvillonnage congelé		Tru RSV		
Culture	Positif	Négatif	Total	
Positif	33	13	46	
Négatif	1	25	26	
Total	34	38	72	
			IC à 95%	
Sensibilité	33/46	71,7%	56,5-84,0%	
Spécificité	25/26	96,2%	80,4-99,9%	
Corrélation	58/72	80,6%	69,5-88,9%	

REMARQUE : Comme le montrent les données du tableau 1, la performance du test générée sur des échantillons prospectifs congelés peut ne pas être identique à celle générée sur base d'échantillons prospectifs frais.

Tableau 2. Résultats du test Tru RSV distribués par site

Lavage/Aspirat frais		Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
N° de site	Tru/Culture	Sensibilité %	IC à 95%		Tru/Culture	Spécificité %	IC à 95%
1	7/8	87,5%	47,3-99,7%		31/45	68,9%	53,4-81,8%
2	3/3	100%	29,2-100%		2/2	100%	15,8-100%
4	54/61	88,5%	77,8-95,3%		57/64	89,1%	78,8-95,5%
Lavage/Aspirat congelé		Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
N° de site	Tru/Culture	Sensibilité %	IC à 95%		Tru/Culture	Spécificité %	IC à 95%
2	5/5	100%	47,8-100%		0/0	N/A	N/A
3	40/47	85,1%	71,7-93,8%		112/122	91,8%	85,4-96,0%
4	34/36	94,4%	81,3-99,3%		37/39	94,9%	82,7-99,4%
Ecouvillonnage frais		Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
N° de site	Tru/Culture	Sensibilité %	IC à 95%		Tru/Culture	Spécificité %	IC à 95%
2	8/9	88,9%	51,8-99,7%		11/15	73,3%	44,9-92,2%
4	3/3	100%	29,2-100%		37/37	100%	90,5-100%
5	1/1	N/A	N/A		53/55	96,4%	87,5-99,6%
Ecouvillonnage congelé		Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
N° de site	Tru/Culture	Sensibilité %	IC à 95%		Tru/Culture	Spécificité %	IC à 95%
2	1/1	100%	N/A		2/2	100%	15,8-100%
3	27/39	69,2%	52,4-83,0%		14/15	93,3%	68,0-99,8%
4	5/6	83,3%	35,9-99,6%		9/9	100%	66,4-100%

SENSIBILITE ANALYTIQUE

La sensibilité analytique de ce dosage a été établie lors de tests avec des dilutions de trois souches du VRS de type A (VR-26, VR-1302, VR-1540) et trois souches du VRS de type B (VR-955, VR-1400, VR-1401). La limite inférieure (voir tableau ci-dessous) dépend de facteurs tels que les lignées cellulaires utilisées, le nombre de passages effectués et l'efficacité des techniques d'isolation. Pour ces raisons, la limite du dosage pour la détection des concentrations peut varier si d'autres souches ou échantillons sont testés.

Souche virale	Type de souche	Limite de détection (LDD) DICC ₅₀ /mL
VR-26	A	2,49 x 10 ²
VR-1302	A	4,47
VR-1540	A	5,52 x 10 ¹
VR-955	B	4,47
VR-1400	B	1,10 x 10 ¹
VR-1401	B	2,47

REPRODUCTIBILITE DU TEST

La précision du dosage et la variabilité intra- et interdosage ont été déterminées en utilisant un groupe d'échantillons de référence, préparé à partir d'échantillons négatifs ensemencés par le virus spécifique. Ce groupe de reproductibilité était constitué de positifs forts (n=2), de négatifs faibles (n=2), de positifs faibles (n=3) et de négatifs élevés (n=3). Ces derniers ont été préparés pour se situer proches de la limite de détection du test. Chaque échantillon a été dosé deux fois par jour, durant trois jours consécutifs par trois sites indépendants. Les résultats étaient reproductibles à 100%, ne montrant ainsi aucune variation intra- ou interdosage pour les échantillons préparés au-dessus ou en dessous de la limite de sensibilité analytique du test.

REACTIONS CROISEES

La spécificité du Tru RSV a été testée à l'aide des souches bactériennes, virales et de levure suivantes. Des échantillons respiratoires VRS positifs et négatifs ont été ensemencés avec $\geq 4 \times 10^7$ /mL de bactéries ou de levure. Les virus ont été testés à des taux $\geq 6,7 \times 10^4$ dose infectieuse culture cellulaire 50 % (DICC₅₀/mL). Aucun des micro-organismes testés n'a donné de résultat positif de l'échantillon négatif pour le VRS ou n'a interféré avec la détection de l'échantillon positif pour le VRS. L'échantillon respiratoire négatif a donné un résultat positif lorsqu'il était ensemencé avec la souche A du VRS, VR-26.

Adénovirus de types 1, 5 et 7A, coxsackie de type A9, coronavirus humain de types 229E et OC43, Cytomégalo virus, grippe A (2 souches), grippe B (1 souche), metapneumovirus humain, rougeole, parainfluenza de types 1, 2 et 3, rhinovirus de type 39, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Branhamella catarrhalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquifaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (non typé), *Streptococcus* des groupes A, B, D, F et G, *Streptococcus pneumoniae*.

Aucune réaction Tru RSV n'a été observée pour un échantillon clinique contenant le virus Epstein Barr à $2,32 \times 10^8$ équivalents génome/mL.

TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES

Les substances suivantes – introduites directement dans les échantillons nasaux - n'interfèrent pas avec le test aux concentrations indiquées: acétaminophène (10 mg/mL), acide acétylsalicylique (20 mg/mL), albutérol (9,1 % v/v), pastilles pour la gorge Halls® (20 mg/mL), pastilles pour la gorge Ludens® (20 mg/mL), maléate de chlorphéniramine (1,7 mg/mL), fumarate de clémastine (5 mg/mL), HCl de diphényldramine (5 mg/mL), dextrométhorphan (9,1 % v/v), naproxène sodique (10 mg/mL), chlorhydrate de phényléphrine (9,1 % v/v), oxymétazoline (9,1 % v/v), guaifénésine (9,1 % v/v), HCl de pseudo-éphédrine (20 mg/mL), bain de bouche Listerine® (9,1 % v/v).

Le sang total à des concentrations supérieures à 2,9 % a produit des interférences avec l'interprétation du test. Le maléate de chlorphéniramine à des concentrations supérieures à 1,7 mg/mL peut causer des résultats faussement positifs.



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,977S B2)

Un inmunoensayo rápido para la detección de antígenos del Virus Respiratorio Sincitial, VRS en muestras de lavado nasal, aspirado nasofaríngeo y de hisopos nasales y nasofaríngeos.

REF 751330

IVD

Rx Only

USO INDICADO

La prueba Tru RSV es un inmunoensayo de flujo lateral, rápido y cualitativo para la detección de antígenos (proteína de fusión o nucleoproteína^{1,2}) del Virus Respiratorio Sincitial, VRS (RSV en inglés) en muestras humanas de lavado nasal y aspirado nasofaríngeo y en muestras en hisopos nasales y nasofaríngeos. Está diseñada para ser utilizada por laboratorios clínicos para analizar muestras de pacientes neonatales y pediátricos sintomáticos de cinco años o menores. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por el VRS. Se recomienda que todos los resultados negativos en la prueba sean confirmados por cultivo tisular. Los resultados de esta prueba deben ser usados en combinación con otras pruebas clínicas y las condiciones del paciente para diagnosticar infecciones asociadas con VRS.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El Virus Respiratorio Sincitial, VRS (RSV en inglés) es la principal causa de neumonía y bronquiolitis en lactantes y niños pequeños. Aproximadamente 90,000 niños son hospitalizados cada año por causa del VRS en los Estados Unidos de América solamente.³ La hospitalización por el VRS se asocia con mayor frecuencia en niños que tienen una enfermedad de fondo o en niños prematuros.⁴ Las tasas de mortalidad para niños hospitalizados por infección con el VRS se estiman entre 1 y 3 %.³ También se ha reconocido cada vez con más frecuencia que el VRS es una causa importante de enfermedad respiratoria entre los ancianos.⁵ El VRS causa una amplia gama de síntomas respiratorios que pueden ser difíciles de distinguir por su sintomatología clínica de aquellos que causan otros virus respiratorios tales como el de la influenza.³ Su alto grado de infectividad, el potencial para liberar virus durante un tiempo prolongado y la capacidad del virus para sobrevivir durante horas sobre las superficies ambientales, han hecho al VRS sobresalir como una causa importante de infección nosocomial.^{3,6} El VRS puede detectarse en muestras respiratorias de humanos mediante una variedad de métodos incluso el cultivo tisular, los ensayos de inmunofluorescencia y los inmunoensayos enzimáticos. A pesar de que el cultivo tisular aún se considera como el método diagnóstico de referencia, éste requiere instalaciones adecuadas para el cultivo tisular y puede tomar hasta una semana para completarse. La sensibilidad de las pruebas basadas en anticuerpos inmunofluorescentes es aceptable, sin embargo, éstas dependen en gran parte de la calidad y preparación de la muestra. Los inmunoensayos enzimáticos y los inmunoensayos de micropartículas se han convertido en uno de los métodos usados con mayor frecuencia para la detección del VRS.⁶ La prueba Tru RSV es un inmunoensayo de flujo lateral para detectar de manera rápida el VRS en muestras respiratorias derivadas de humanos. Los resultados de esta prueba se usan para apoyar los datos disponibles a partir de la evaluación clínica del paciente y para ayudar al médico a determinar el curso a seguir.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

La prueba Tru RSV es un inmunoensayo de captura de uso único para detectar el antígeno VRS en muestras de humanos. La prueba consta de un Tubo con Conjugado, una Tira de Prueba y un Diluyente de Muestra. El Tubo con Conjugado contiene una perla liofilizada de anticuerpos monoclonales contra las nucleoproteínas de fusión (anticuerpos detectores) del virus ligados a oro coloidal. La Tira de Prueba tiene una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos de captura secos que están colocados en la Línea de Test para VRS (Test Line para RSV) designada. El soporte de la Tira de Prueba tapa el Tubo con Conjugado durante la prueba y luego al desechar el tubo disminuye la posible exposición a microorganismos potencialmente patógenos.

La perla con conjugado se rehidrata primero en el Tubo con Conjugado que contiene Diluyente de Muestras. Luego se añade la muestra del paciente, se mezcla todo el contenido y se introduce la Tira de Prueba. Si hay antígenos del VRS presentes, primero se unirán al conjugado de anticuerpo monoclonal-oro coloidal. Cuando la muestra migra ascendiendo por la Tira de Prueba hacia la Línea de Test (Test Line), el complejo antígeno-conjugado se une con el anticuerpo de captura y produce una línea de color rosado-rojo. Cuando no hay antígeno presente, no se forman complejos y no aparecerá ninguna línea de color rosado-rojo en la Línea de Prueba. Una línea de control interno ayuda a determinar si hubo o no hubo flujo adecuado a través de la Tira de Prueba durante una corrida de la prueba. Una línea visible de color rosado-rojo en la posición Control de la Tira de Prueba deberá estar presente cada vez que se analiza una muestra o un control. Si no se ve una línea de control rosado-rojo la prueba se considera inválida.

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.

- Tira de Prueba:** Una Tira de Prueba adherida a un soporte plástico que viene dentro de una bolsa metálica con desecante. La Tira de Prueba tiene anticuerpos monoclonales anti-VRS de captura (contra las proteínas de fusión e interna^{1,2}) para las líneas de prueba. El soporte se usa para taponar el Tubo con Conjugado. La porción encuadrada del soporte indica el lugar donde deben aparecer las líneas de test y de control. Almacene la bolsa entre 2 y 25 °C cuando no la esté usando. No use el dispositivo si el indicador del desecante (la línea en el medio del desecante) cambia de color azul a rosado.
- Tubo con Conjugado:** Un tubo plástico y con tapón y que contiene una perla de conjugado. El tubo viene dentro de una bolsa metálica. El conjugado consiste de anti-VRS (contra las nucleoproteínas de fusión) conjugado con oro y sirve como anticuerpos de detección. Almacene la bolsa metálica entre 2 y 25 °C cuando no la esté usando. No almacene el conjugado en el congelador. No remueva el tapón antes de usarlo. No use el dispositivo si el indicador del desecante (la línea en el medio del desecante) cambia de color azul a rosado.
- Diluyente de Muestra / Control Negativo:** Una solución proteica tamponada provista en un vial plástico con gotero. Azida de Sodio al 0,094 % añadida como agente preservante. Listo para usar. Almacene entre 2 y 25 °C cuando no se esté usando.
- Pipetas plásticas para transferencia con marcas de graduación para volúmenes de 100, 200 y 300 µL como se muestra en el diagrama de abajo.
- Rótulos para los tubos del conjugado Tru RSV; para distinguirlos de los tubos de conjugado de otras pruebas Tru.

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

- Guantes de látex desechables; las muestras de las vías respiratorias se consideran material biológico potencialmente nocivo
- Un vórtex para suspender la muestra en el Diluyente de Muestras; opcional
- Cronómetro de intervalos
- Control Positivo Meridian Bioscience RSV Positive Control (Número de catálogo 751110). Microorganismos inactivados de virus respiratorio sincitial (RSV por sus iniciales en inglés), de virus de influenza A y de virus de influenza B, en un diluyente tamponado que contiene azida de sodio al 0,094% como agente preservante. El reactivo se suministra listo para usar. Almacene entre 2 y 8 °C cuando no se esté usando; este Control Externo adjunto se vende por separado.
- Lápiz marcador

PRECAUCIONES

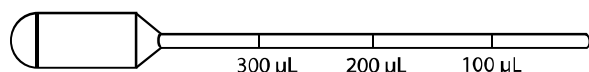
1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. No use reactivos más allá de su fecha de caducidad.
3. Las Tiras de Prueba y los Tubos con Conjugado vienen empacados en bolsas metálicas que eliminan la humedad durante el almacenamiento. Revise cada bolsa metálica antes de usarla. No utilice Tiras de Prueba o Tubos con Conjugado que estén en bolsas con agujeros o que estén en bolsas que no hayan sido selladas por completo. No use la Tira de Prueba si el indicador del desecante ha cambiado de color azul a color rosado. El cambio en el color del desecante constituye un indicador de que el Dispositivo de Prueba o el Tubo con Conjugado ha sido expuesto a la humedad. Pueden ocurrir reacciones negativas falsas si las Tiras de Prueba o los Tubos con Conjugado son expuestos a la humedad.
4. No use el tampón Diluyente de Muestra si éste está decolorado o turbio. La decoloración o turbidez pueden ser una señal de contaminación microbiana.
5. Las instrucciones deben leerse y seguirse cuidadosamente.
6. Con el objeto de asegurar consistencia en el tamaño y administración de la gota los viales del reactivo de Control Positivo deben mantenerse en posición vertical al dispensar las gotas.
7. Algunas muestras de pacientes contienen agentes infecciosos; por lo tanto, todas las muestras de los pacientes deberían manejarse y desecharse como si fueran material biológico nocivo.
8. El Control Positivo RSV Positive Control de Meridian, que se vende como reactivo adjunto, contiene antígenos inactivados del virus de influenza y del virus sincitial respiratorio, VRS (RSV en inglés), y debe manejarse como si fuera potencialmente infeccioso. Algunos reactivos contienen el preservativo azida de sodio (0,094%) el cual puede irritar la piel. Evite contacto con los reactivos. Depositar los reactivos que contienen azida de sodio en las tuberías que contienen plomo o cobre puede resultar en la formación de óxidos de metales explosivos. Para eliminar la acumulación de óxidos durante el proceso de eliminación asegúrese de fluir grandes volúmenes de agua por el drenaje.
9. Todas las muestras respiratorias deben mezclarse minuciosamente antes de realizar la prueba, independientemente de cual sea su consistencia, con el objeto de asegurar la obtención de una muestra representativa antes de realizar la prueba.
10. El no hacer que las muestras y reactivos alcancen la temperatura ambiente (20 a 25 C) antes de realizar la prueba puede disminuir la sensibilidad de la misma.
11. Los antígenos del VRS son relativamente inestables. Se debe tener cuidado de almacenar las muestras como se indica en este documento. Inclusive cuando las muestras se almacenan en estado congelado, la velocidad con la cual ocurre el deterioro del antígeno varía de muestra a muestra y no puede predecirse. Se debe tomar precaución al asignar un resultado negativo a muestras congeladas durante más de dos semanas a temperaturas ≤ -20 C pues tal resultado puede ser un negativo falso.
12. Las muestras en hisopos se pueden transportar en 0,5 a 3 mL de medio de transporte aprobado. Se pueden obtener reacciones positivas más fuertes si el volumen del medio de transporte es de 0,5 a 1,5 mL.
13. El Diluyente de Muestra debe añadirse al Tubo con Conjugado dentro de un plazo máximo de un minuto después de remover la tapa del tubo.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

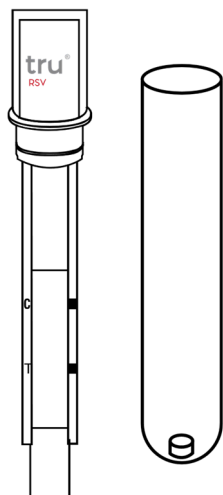
No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

Abajo se muestra un diagrama de la pipeta de transferencia Tru RSV.



Abajo se muestra un diagrama de la Tira de Prueba Tru RSV y de los Tubos con Conjugado.



RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Precaución: La sangre completa a concentraciones mayores de 2,9% puede causar resultados falsos positivos. No use muestras que están obviamente contaminadas con sangre.

1. Las muestras deben recolectarse y transportarse en recipientes estándar y almacenarse entre 2 y 8 C hasta analizarse. La muestra debe analizarse lo más pronto posible, pero puede mantenerse entre 2 y 8 C hasta por un máximo de 72 horas antes de analizarse. Si no pueden analizarse durante este período de tiempo, las muestras deben congelarse inmediatamente se reciben y almacenarse congeladas a ≤ -20 C hasta por un plazo máximo de dos semanas hasta analizarse (ver la sección de PRECAUCIONES). Un solo ciclo de congelación y descongelación no deberá afectar los resultados de la prueba.
2. Los siguientes medios de transporte líquidos son aceptables para la recolección de muestras:

Medios de transporte: M4, M4-RT, M5, UTM-RT, Stuart's, Sal tamponada de Hank, Amies, Solución salina tamponada (PBS) con fosfato de Dulbecco, Solución Salina al 0,85% y Medio de transporte viral de Meridian (No. De Catálogo 505021). El volumen del medio de transporte no debe exceder 3 mL pues pueden ocurrir resultados negativos falsos por dilución de la muestra.

Hisopos (hisopo / cuerpo): Algodón / plástico, rayón / plástico, nylon en copo / plástico, espuma / plástico, poliéster / metal, poliéster / plástico, rayón / metal, y algodón / metal. **No use hisopos impregnados con alginato de calcio.** Esta sustancia química disminuye las reacciones positivas. Las muestras colectadas con hisopos con cuerpo de plástico aprobados deben ser procesadas dentro de 60 minutos. Muestras colectadas con hisopos con cuerpo de metal aprobados deben ser procesadas inmediatamente. Si la prueba no se puede llevar a cabo dentro del tiempo límite, ponga el hisopo en un medio de transporte aceptable.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRAS

Haga que tanto las muestras como los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20 a 25 C) antes de realizar la prueba.

Muestras de lavado nasal, de aspirado nasofaríngeo o de hisopos en medio de transporte:

1. Saque un Tubo con Conjugado de su bolsa metálica correspondiente y deseche la bolsa. Marque el tubo con el nombre del paciente. Coloque un rótulo Tru RSV al tubo.
2. Quítele la tapa al Tubo con Conjugado y deséchela.
3. Utilizando la pipeta de transferencia suministrada con el kit, añada inmediatamente 100 µL (la primera marca desde la punta de la pipeta) de Diluyente para Muestras al Tubo con Conjugado. Dispense directamente hacia el centro del tubo. Mezcle con un agitador mecánico (vórtex) o rotando en forma circular el contenido del Tubo con Conjugado durante 10 segundos.

Precaución: Errores de dilución pueden afectar la ejecución de la prueba. El no añadir suficiente muestra respiratoria al Diluyente de Muestra puede dar resultados falsos negativos. El no añadir la cantidad completa del Diluyente de Muestra puede dar resultados falsos positivos. Añadir muestra de mas puede dar resultados invalidos ya que se puede impedir el flujo apropiado de la muestra.

4. Mezcle la muestra del paciente independientemente de cual sea su consistencia. Use una de las pipetas de transferencia suministradas con el equipo de prueba para mezclar la muestra suave pero concienzudamente oprimiendo la parte superior (pera) de la pipeta tres veces. De otro modo, mezcle durante por lo menos 10 segundos con un agitador (vórtex) mecánico.
5. Usando la misma pipeta, aspire 100 µL de muestra (hasta la primera marca desde la punta de la pipeta) y añádala al Tubo con Conjugado.
6. Usando la misma pipeta, mezcle la muestra y el conjugado concienzudamente pero suavemente oprimiendo la pera de la pipeta tres veces. De otro modo, mezcle durante por lo menos 10 segundos con un agitador (vórtex) mecánico. Deseche la pipeta.

Muestras en hisopos nasales y nasofaríngeos que se recolectan sin medio de transporte:

NOTA: Los hisopos fabricados con cuerpo de plástico y cabeza de nylon en copo o con materiales de espuma absorbente son recomendables para recolectar muestras en hisopos sin medio de transporte.

1. Retire un Tubo con Conjugado de su bolsa metálica correspondiente y deseche la bolsa. Marque el tubo con el nombre del paciente. Coloque un rótulo Tru RSV al tubo.
2. Quítele la tapa al Tubo con Conjugado y deséchela.
3. Utilizando una pipeta de transferencia suministrada con el kit, inmediatamente añada 300 µL (hasta la tercera marca desde la punta de la pipeta) de Diluyente de Muestras al Tubo con Conjugado. Dispense directamente hacia el centro del tubo. Mezcle con un agitador mecánico (vórtex) o rotando en forma circular el contenido del Tubo con Conjugado durante 10 segundos. Para muestras demasiado viscosas (gruesas) puede añadirse hasta 500 µL de Diluyente para Muestras. [Para dispensar 500 µL con la pipeta de transferencia suministrada con el kit, aspire y dispense 300 µL (hasta la tercera marca desde la punta de la pipeta) al Tubo con Conjugado. Usando la misma pipeta, aspire y dispense 200 µL (hasta la segunda marca desde la punta de la pipeta) dentro del mismo Tubo con Conjugado.]

Precaución: Errores de dilución pueden afectar la ejecución de la prueba. El no añadir suficiente muestra respiratoria al Diluyente de Muestra puede dar resultados falsos negativos. El no añadir la cantidad completa del Diluyente de Muestra puede dar resultados falsos positivos. Añadir muestra de mas puede dar resultados invalidos ya que se puede impedir el flujo apropiado de la muestra.

4. Sumerja el hisopo dentro del Tubo con Conjugado y rótele 3 veces dentro del líquido. Oprima el hisopo contra una de las paredes del tubo a medida que lo remueve para extraer tanto líquido como sea posible. Deseche el hisopo.

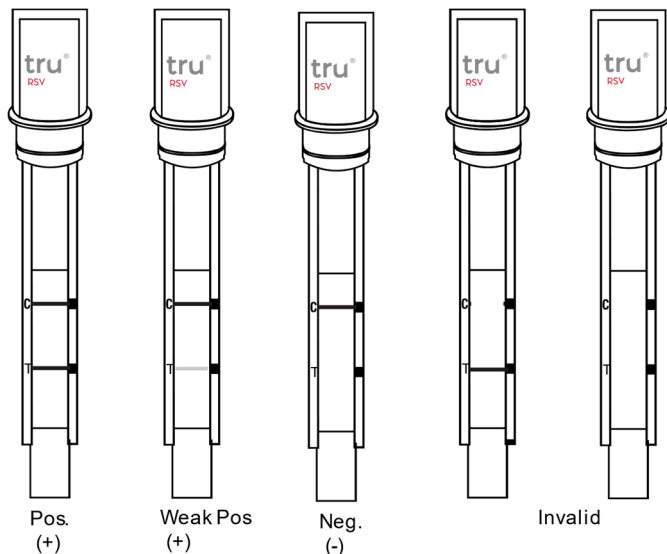
PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Saque la Tira de Prueba de la bolsa metálica en que viene y deseche la bolsa.
2. Inserte el extremo angosto de la Tira de Prueba dentro del Tubo con Conjugado y presione firmemente el tapón hacia abajo para cerrar el tubo.
3. Incube durante 15 minutos a una temperatura entre 20 y 25 C.
4. Lea los resultados sobre la tira de nitrocelulosa dentro de un plazo de 1 minuto. No lea los resultados pasado este periodo. (NOTA: Retire la Tira de Prueba del Tubo con Conjugado si las líneas de test o de control no se pueden leer con facilidad. Vuelva a tapar el Tubo con Conjugado con el soporte de la Tira de Prueba y deséchelo cuando haya concluido la prueba.)

PRUEBAS DE CONTROL EXTERNO

1. Permita que todos los componentes de la prueba, los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (20 a 25 C) antes de realizar la prueba.
2. Use 1 Tubo con Conjugado y 1 Tira de Prueba para evaluar el control positivo y 1 Tubo con Conjugado y 1 Tira de Prueba para evaluar el control negativo.
3. Saque los tubos con conjugado de las bolsas metálicas en que vienen y márkelos apropiadamente. Deseche las bolsas metálicas.
4. Quítele las tapas a los tubos con conjugado y deséchelas.
5. Añada exactamente 5 gotas del reactivo de Control Positivo al Tubo con Conjugado que está marcado para el Control Positivo. Las gotas deben dispensarse directamente hacia el centro del tubo.
6. Usando 1 de las pipetas de transferencia suministrada con el kit, añada 200 µL (hasta la segunda marca desde la punta de la pipeta) de Diluyente para Muestras / Control Negativo al Tubo con Conjugado marcado para Control Negativo. Las gotas deben añadirse directamente hacia el centro del tubo.
7. Mezcle con un agitador mecánico (vórtex) o rotando los tubos en forma circular durante 10 segundos.
8. Saque 2 Tiras de Prueba de las bolsas metálicas en que vienen y deseche las bolsas.
9. Inserte el extremo angosto de una Tira de Prueba dentro de cada Tubo con Conjugado y presione firmemente el tapón hacia abajo para cerrar cada tubo.
10. Incube ambos tubos durante 15 minutos a una temperatura entre 20 y 25 C.
11. Lea los resultados sobre la tira de nitrocelulosa dentro de un plazo de 1 minuto. No lea pasado este periodo. (NOTA: Retire la Tira de Prueba del Tubo con Conjugado si las líneas de test o de control no se pueden leer con facilidad. Vuelva a tapar el Tubo con Conjugado con el soporte de la Tira de Prueba y deséchelo cuando haya concluido la prueba.)

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



Prueba Negativa: Una banda de color ROSADO-ROJO en la posición de Línea de Control. Ninguna otra banda está presente.

Prueba Positiva: Banda de color ROSADO-ROJO en las posiciones de línea de Control y línea de test RSV. El color de la línea de Test puede ser más pálido que el de la línea de Control. Las líneas de test pueden aparecer con una intensidad muy fuerte o con una intensidad menos fuerte.

Prueba positiva débil: Una banda de color ROSADO-ROJO en la posición de Control y la aparición de una banda de visibilidad muy tenue en la posición línea de test RSV (con una intensidad de color ROSADO-ROJO igual o menor en comparación con la de la línea de Test débilmente positiva ("Weakly Positive") que aparece en la ilustración a color que se proporciona en la tarjeta del procedimiento). Las líneas de test Tru RSV positivas débiles deben interpretarse con cautela puesto que los resultados positivos débiles pueden representar resultados positivos falsos. En los estudios clínicos de la prueba Tru RSV el 35 % (23/66) de pruebas con resultado positivo débil fueron resultados positivos falsos al compararse con los resultados de cultivo tisular (ver también la sección de Limitaciones). Las pruebas con resultado positivo débil deben considerarse presuntamente positivas y deben confirmarse mediante cultivo tisular o pruebas de anticuerpos detectados por inmunofluorescencia directa (DFA).

Resultados inválidos de la prueba:

1. No hay banda en la posición designada para la línea de Control. La prueba es inválida puesto que la ausencia de una banda de control indica que el procedimiento de la prueba no se realizó correctamente o que ocurrió deterioro de los reactivos.
2. Una banda de color ROSADO-ROJO que aparece después de 16 minutos de incubación en la posición de línea de test (Test Line) del dispositivo o una banda de cualquier color que no sea ROSADO-ROJO. Pueden ocurrir resultados positivos falsos si las pruebas se incuban demasiado tiempo. Las bandas de otros colores que no sean ROSADO-ROJO pueden indicar el deterioro de los reactivos.

Si cualquier resultado es difícil de interpretar, la prueba debe repetirse con la misma muestra para eliminar el potencial de error. Obtenga una muestra nueva y vuelva a hacer la prueba cuando la muestra original produce repetidamente resultados que no se pueden leer.

CÓMO REPORTAR LOS RESULTADOS

Prueba Negativa: Reporte el resultado de la prueba como "Antígenos del VRS no detectados. Este resultado no excluye la posibilidad de infección viral. Resultados negativos deben ser confirmados por cultivo de tejido."

Prueba Positiva para VRS: Reporte el resultado de la prueba como "Positivo para el antígeno del VRS. Este resultado no excluye la posibilidad de coinfección con otros patógenos".

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

Los componentes de cada equipo de prueba (kit) deben examinarse a simple vista para determinar la presencia de señales obvias de contaminación microbiana, congelamiento o derrame en el momento en que van a usarse. No use reactivos contaminados o que se sospeche que lo están.

Controles internos: Los controles internos están incorporados en la Tira de Prueba y por lo tanto son evaluados con cada prueba.

1. Una banda de color rosada-roja que aparece en la línea de Control sirve como control positivo interno e indica que la prueba se realizó correctamente, que la muestra se añadió, que fluyó adecuadamente y que los reactivos de la prueba estaban activos en el momento en que se usaron.
2. Un fondo incoloro alrededor de las líneas de Control o de Test sirve como control negativo. Un fondo que oscurece la lectura de los resultados invalida la prueba y es indicativo del deterioro de los reactivos, de una muestra inadecuada o de un desempeño deficiente de la prueba.

Los reactivos de control externos deben analizarse de acuerdo con los requisitos del laboratorio, o de aquellas agencias locales, estatales o nacionales o de acreditación que sean aplicables.

1. Véase la sección PRUEBAS DE CONTROL EXTERNO para encontrar instrucciones sobre cómo realizar estas pruebas de control.
2. La reactividad de cada nuevo lote y cada nuevo embarque de prueba Tru RSV debe verificarse al recibir la misma usando reactivos de control externo, tanto positivos como negativos (Positive Control y Negative Control). El número de pruebas adicionales que se realizan con los controles externos será determinado por los requisitos de las reglamentaciones locales, estatales o nacionales o de las agencias de acreditación.
3. Los controles externos se usan para monitorizar la reactividad de los reactivos. Cuando los controles no generan los resultados esperados esto puede significar que uno o más de los reactivos o componentes han perdido su reactividad en el momento de usarse, que el test no se realizó correctamente, o que los reactivos o muestras no fueron añadidos. Si el control externo positivo y negativo falla, no reporte los resultados al médico.
4. Los resultados que se esperan ver con los Controles están descritos en la sección INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

El equipo de prueba no debe usarse si las pruebas de control no producen resultados correctos. **Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.**

Los reactivos de Control Positivo y Control Negativo que se manufacturan para esta prueba se preparan en la matriz del Diluyente de Muestra, el cual no puede que no imite las muestras. Si se prefieren materiales de control cuya composición sea idéntica a la de las muestras a ser analizadas, el usuario lo puede preparar diluyendo muestras con un resultado positivo y negativo conocidos con Diluyente de Muestra de acuerdo con la descripción hecha en la sección de PREPARACIÓN DE LA MUESTRA de este inserto.

VALORES ESPERADOS

La tasa de positividad para cada laboratorio dependerá de varios factores inclusive del método de recolección de la muestra, del manejo y transporte de la muestra, de la época del año, de la edad del paciente y de la prevalencia del virus respiratorio sincitial en el momento en que se realiza la prueba. Los informes de la Centros para el Control de Enfermedades de los EE. UU. (CDC) demuestran que los brotes de infección por el VRS ocurren cada año; usualmente durante los meses del final del otoño, de invierno y de primavera. La época y gravedad de un brote en una comunidad determinada varía de año en año. La prevalencia de la infección por el VRS en los EE. UU. durante los estudios clínicos para el test Tru RSV (diciembre de 2006 a marzo de 2007), de acuerdo con los CDC, fluctuó desde un valor máximo de aproximadamente 15 % en diciembre hasta un valor mínimo de aproximadamente 4 % en marzo. Las tasas de prevalencia mensual en los sitios donde se realizaron los estudios clínicos, tomando como base los resultados de muestras prospectivas obtenidas al azar, fueron las siguientes: en diciembre 43 %, en enero 37 %, en febrero 7 % y en marzo 5 %.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La prueba es cualitativa y no debe hacerse ninguna interpretación cuantitativa con respecto a la intensidad de la línea positiva al reportar el resultado.
2. El funcionamiento de la prueba Tru RSV en pacientes mayores de cinco años de edad no se ha establecido.
3. Los resultados de la prueba deben usarse en conjunto con la información disponible a partir de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos diagnósticos.
4. La incubación de la prueba por más tiempo del requerido puede causar resultados positivos falsos. Incubar las pruebas a temperaturas menores o por menos tiempo de lo recomendado puede causar resultados negativos falsos.
5. No se evaluó si los antimicrobianos, antivirales o el interferón poseían propiedades que pudieran interferir con la prueba.
6. La prueba Tru RSV detecta tanto VRS viable como VRS no viable. La aparición de pruebas Tru RSV positivas depende de la carga de antígeno viral VRS en la muestra; por lo tanto, una prueba Tru RSV positiva puede no correlacionarse con los resultados de un cultivo tisular realizado con la misma muestra.
7. Los anticuerpos empleados en la prueba pueden no detectar todas las variantes antigénicas o las nuevas cepas de VRS.
8. Un resultado negativo en la prueba no excluye la infección por el VRS ni tampoco descarta la presencia de infecciones respiratorias causadas por otros microorganismos. Una prueba positiva no descarta la posibilidad de una co-infección con otros microorganismos.
9. Muestras en hisopos secos (sin medio de transporte) no son tan estable como hisopos en medio de transporte. Estudios llevados a cabo en Meridian sugieren que las muestras en hisopos con cuerpo de metal se deterioran más rápido que hisopos con cuerpo de plástico.
10. En todos los ensayos inmunocromatográficos, la aparición de bandas ligeramente visibles o débiles en las líneas de test tiene mayor probabilidad de asociarse con un resultado positivo falso que la aparición de bandas con resultados positivo fuerte en las líneas de test. Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico, el resultado de una prueba Tru RSV debe tener en cuenta los resultados de otras pruebas y la sintomatología clínica del paciente.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Los estudios clínicos evaluaron el funcionamiento de la prueba Tru RSV en al ámbito del laboratorio. Cuatro laboratorios independientes en distintas regiones geográficas de los EE. UU. y el laboratorio del fabricante evaluaron un total de 625 muestras obtenidas a partir de pacientes sintomáticos menores de cinco años de edad y a quienes se les había ordenado la prueba de VRS. Trescientas cuatro (304) de las muestras fueron obtenidas durante la temporada del 2006 al 2007 y durante temporadas anteriores y fueron analizadas como muestras frescas, mientras que 321 muestras fueron analizadas después de un ciclo de congelación y descongelación. Las muestras congeladas se obtuvieron durante la temporada del 2006 al 2007 y durante temporadas anteriores y fueron analizadas mediante cultivo tisular antes de congelarlas. La distribución entre las muestras provenientes de hombres y mujeres fue equitativa. Las muestras que produjeron resultados diferentes en la prueba Tru RSV y el cultivo tisular fueron re-cultivadas o analizadas por inmunofluorescencia directa (DSFA) o por ensayo de reacción de polimerasa en cadena (PCR). Aquellas en las cuales se produjo un resultado positivo en la prueba RSV después de volver a cultivarlas o en la prueba de DSFA o PCR se muestran en el texto que aparece debajo de los cuadros que se muestran a continuación.

Tabla 1. Distribución de data de Tru RSV por tipo de muestra

Lavado/Aspirado Fresco	Tru RSV**		
Cultivo de tejido	Positivo	Negativo	Total
Positivo	64	8	72
Negativo	21*	90	111
Total	85	98	183
			95% CI
Sensitividad	64/72	88,9%	79,3-95,1%
Especificidad	90/111	81,1%	73,8-88,4%
Correlación	154/183	84,2%	78,9-89,4%

* De 21 resultados Tru RSV falso-positivo, tres eran positive por DSFA

** Una prueba de Tru RSV fue inválida

Hisopos Frescos	Tru RSV		
Cultivo de tejido	Positivo	Negativo	Total
Positivo	12	1	13
Negativo	7*	100	107
Total	19	101	120
			95% CI
Sensitividad	12/13	92,3%	64,0-99,8%
Especificidad	100/107	93,5%	87,0-97,3%
Correlación	112/120	93,3%	87,3-97,1%

* De siete resultados Tru RSV falso-positivo, cuatro eran positive por PCR

Lavado/Aspirado Congelado	Tru RSV		
Cultivo de tejido	Positivo	Negativo	Total
Positivo	79	9	88
Negativo	12*	149	161
Total	91	158	249
			95% CI
Sensitividad	79/88	89,8%	81,5-95,2%
Especificidad	149/161	92,5%	87,3-96,1%
Correlación	228/249	91,6%	87,4-94,7%

* De 12 resultados Tru RSV falso-positivo, dos eran positive por DSFA

Hisopos Congelados	Tru RSV		
Cultivo de tejido	Positivo	Negativo	Total
Positivo	33	13	46
Negativo	1	25	26
Total	34	38	72
			95% CI
Sensitividad	33/46	71,7%	56,5-84,0%
Especificidad	25/26	96,2%	80,4-99,9%
Correlación	58/72	80,6%	69,5-88,9%

NOTA: Como indica la data en Tabla 1, las características de ejecución generadas de muestras prospectivase congeladas pueden que no sean las mismas características de ejecución generadas por muestras prospectivas frescas.

Tabla 2. Distribución de los resultados por localidad

Lavado/ Aspirado Fresco	Muestras Positivas				Muestras Negativas		
Local ID	Tru/Cultivo	Sensitividad %	95% CI		Tru/Cultivo	Especificidad %	95% CI
1	7/8	87,5%	47,3-99,7%		31/45	68,9%	53,4-81,8%
2	3/3	100%	29,2-100%		2/2	100%	15,8-100%
4	54/61	88,5%	77,8-95,3%		57/64	89,1%	78,8-95,5%
Lavado/ Aspirado Congelado	Muestras Positivas				Muestras Negativas		
Local ID	Tru/Cultivo	Sensitividad %	95% CI		Tru/Cultivo	Especificidad %	95% CI
2	5/5	100%	47,8-100%		0/0	N/A	N/A
3	40/47	85,1%	71,7-93,8%		112/122	91,8%	85,4-96,0%
4	34/36	94,4%	81,3-99,3%		37/39	94,9%	82,7-99,4%
Hisopos Frescos	Muestras Positivas				Muestras Negativas		
Local ID	Tru/Cultivo	Sensitividad %	95% CI		Tru/Cultivo	Especificidad %	95% CI
2	8/9	88,9%	51,8-99,7%		11/15	73,3%	44,9-92,2%
4	3/3	100%	29,2-100%		37/37	100%	90,5-100%
5	1/1	N/A	N/A		53/55	96,4%	87,5-99,6%
Hisopos Congelados	Muestras Positivas				Muestras Negativas		
Local ID	Tru/Cultivo	Sensitividad %	95% CI		Tru/Cultivo	Especificidad %	95% CI
2	1/1	100%	N/A		2/2	100%	15,8-100%
3	27/39	69,2%	52,4-83,0%		14/15	93,3%	68,0-99,8%
4	5/6	83,3%	35,9-99,6%		9/9	100%	66,4-100%

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica de este ensayo se estableció haciendo pruebas con diluciones de tres cepas de VRS A (VR-26, VR-1302 y VR-1540) y con tres cepas de VRS B (VR-955, VR-1400 y VR-1401). El límite inferior de detección (ver tabla abajo) depende de factores tales como las líneas celulares usadas, el número de pasajes realizados y la efectividad de los métodos de aislamiento. Por estas razones los niveles del límite de detección del ensayo pueden variar si otras cepas o muestras son usadas.

Identificación de la cepa	Tipo de cepa	Límite de Detección (LoD) TCID ₅₀ /mL
VR-26	A	2,49 x 10 ²
VR-1302	A	4,47
VR-1540	A	5,52 x 10 ¹
VR-955	B	4,47
VR-1400	B	1,10 x 10 ¹
VR1401	B	2,47

REPRODUCIBILIDAD

La precisión del ensayo, la variabilidad dentro de la misma prueba (variabilidad en la serie) y la variabilidad entre prueba y prueba (variabilidad entre series) fueron evaluadas con un panel de referencia preparado a partir de un grupo de muestras negativas al cual se les añadió virus específicos. El panel de muestras de reproducibilidad consistió de positivos altos (n=2), negativos bajos (n=2), positivos bajos (n=3) y negativos altos (n=3). Este último se preparó cerca del límite de sensibilidad de la prueba. Cada muestra fue evaluada dos veces al día durante tres días consecutivos y por tres laboratorios distintos. La reproducibilidad fue de 100% sin variabilidad dentro de la misma prueba (variabilidad en paralelo) ni variabilidad entre prueba y prueba (variabilidad en serie) en las muestras preparadas por encima y por debajo del límite de sensibilidad analítica.

REACTIVIDAD CRUZADA

La especificidad del test Tru RSV fue evaluada utilizando las siguientes cepas bacterianas, virales y de levaduras. A muestras respiratorias VRS positivas y negativas se les añadió una cantidad $\geq 4 \times 10^7$ /mL de bacterias o levaduras. Los virases fueron probados a niveles $\geq 6.7 \times 10^4$ TCID₅₀/mL. Ninguno de los microorganismos analizados dio un resultado positivo en la muestra VRS negativa o interfirió con la detección de la muestra VRS-positiva. Las muestras respiratorias VRS-negativas dieron positivas cuando se les añadió la cepa de VRS VR-26. Adenovirus Tipos 1, 5 y 7A, Coxsackie Tipo A9, Coronavirus Humano Tipos 229E y OC43, Cytomegalovirus, Influenza A (2 cepas), Influenza B (1 cepa), Human metapneumovirus, Measles, Parainfluenza Tipos 1, 2 y 3, Rinovirus Tipo 39, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Branhamella catarrhalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquifaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (no tipificado), *Streptococcus* Grupo A, B, D, F, y G y *Streptococcus pneumoniae*.

Una muestra clínica conteniendo el virus Epstein Barr a $2,32 \times 10^8$ genome equivalentes/mL fue no reactiva con Tru RSV.

PRUEBAS PARA SUSTANCIAS INTERFERENTES

Cuando se introducen las siguientes sustancias directamente dentro de las muestras nasales éstas no interfieren con la prueba a las concentraciones identificadas: Acetaminofeno (10 mg/mL), ácido acetilsalicílico (20 mg/mL) albuterol (9,1 % v/v), pastillas para la garganta Halls® (20 mg/mL), pastillas para la garganta Ludens® (20 mg/mL), maleato de clorfeniramina (1,7 mg/mL), fumarato de clemastina (5 mg/mL), difenhidramina (5 mg/mL), dextrometorfano (9,1 % v/v), naproxeno sódico (10 mg/mL), clorhidrato de fenilefrina (9,1 % v/v), oximetazolina (9,1 % v/v), guaiafenesina (9,1 % v/v), clorhidrato de pseudoefedrina (20 mg/mL) y enjuague bucal Listerine (9,1% v/v).

La sangre total a concentraciones mayores que 2,9 % interfirió con la interpretación de la prueba. El maleato de clorfeniramina a concentraciones mayores que 1,7 mg/mL puede causar resultados positivos falsos.



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,977S B2)

Ein schneller Immunoassay für den Nachweis von Respiratory Syncytial Virus (RSV) Antigenen in Nasenspülflüssigkeit, Nasen-Rachen-Aspirat, Nasen-Rachen- und Nasen-Abstrichproben

REF 751330

IVD

Rx Only

VERWENDUNGSZWECK

Der Tru RSV-Test ist ein schneller, qualitativer Immunoassay mit lateraler Flussrichtung und dient zum Nachweis von RSV-Antigenen (Fusionsprotein oder Nukleoprotein^{1,2}) in Human-Nasenspülflüssigkeit, -Nasen-Rachen-Aspirat und -Nasen- und -Nasen-Rachen-Abstrichproben. Der Test ist für Proben in klinischen Labors konzipiert, und zwar für symptomatische Patienten bis zum Alter von fünf Jahren. Ein negatives Ergebnis schließt eine RS-Virusinfektion nicht aus. Die Bestätigung aller negativen Testergebnisse mittels Zellkulturen ist anzuraten. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit den verfügbaren Daten aus der klinischen Untersuchung des Patienten und anderen Diagnostikverfahren heranzuziehen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Das RS-Virus ist der wichtigste Erreger von Pneumonie und Bronchiolitis bei Säuglingen und Kleinkindern. Allein in den USA werden jährlich ca. 90.000 Kinder auf Grund des RS-Virus in Krankenhäuser eingewiesen.³ Krankenhauseinweisungen auf Grund des RS-Virus sind häufiger bei Kindern mit zugrunde liegenden Erkrankungen oder bei Frühchen.⁴ Die Sterblichkeitsrate bei Kindern, die auf Grund einer RS-Virus-Erkrankung in ein Krankenhaus eingewiesen werden, beträgt schätzungsweise 1 bis 3 %.³ Das RS-Virus wird auch immer häufiger als Ursache signifikanter Atemwegserkrankungen bei älteren Menschen identifiziert.⁵ Das RS-Virus verursacht ein breites Spektrum an Atemwegssymptomen, die sich evtl. nur schwer klinisch von den Symptomen anderer Atemwegsviren, wie bspw. Influenza, unterscheiden lassen.³ Auf Grund der großen Infektiosität, dem Potenzial für eine längere Verbreitung durch den Patienten und der stundenlangen Überlebensfähigkeit des Virus auf Umgebungsoberflächen hat sich das RS-Virus zu einem ernst zu nehmenden Erreger von Nosokomialinfektionen entwickelt.^{3,6} Das RS-Virus lässt sich in Human-Atemwegsproben mit einer Reihe von Methoden nachweisen, u. a. durch Gewebekulturen, Immunfluoreszenzassays und Enzym-Immunoassays. Gewebekulturen gelten zwar immer noch als die standardmäßige diagnostische Testmethode, erfordern jedoch spezielle Gewebekultureinrichtungen und können eine Woche dauern. Antikörperbasierte Immunfluoreszenz-Tests zeigen eine annehmbare Empfindlichkeit, sind jedoch in stärkster Weise abhängig von Probenqualität und -vorbereitung. Immunoassays auf Enzym- und Mikropartikel-Basis haben sich zu den am häufigsten eingesetzten Methoden für den Nachweis des RS-Virus entwickelt.⁶ Der Tru RSV-Test ist ein Immunoassay mit lateraler Flussrichtung und dient zum raschen Nachweis des RS-Virus in Human-Atemwegsproben. Die Ergebnisse dieses Tests werden zur Unterstützung der verfügbaren Daten aus der klinischen Beurteilung des Patienten herangezogen und sind dem Arzt eine Hilfe bei der Erstellung eines Behandlungsplans.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der Tru RSV-Test ist ein Einmal-Erfassungsimmoassay für den Nachweis von RSV-Antigenen in Humanproben. Er umfasst ein Konjugatröhrchen, einen Teststreifen und Probendiluent. Das Konjugatröhrchen enthält eine lyophilisierte Kugel die aus Goldgel gebundenen monoklonalen Antikörpern gegen RS-Virus-Fusionsprotein und Nukleoprotein (Nachweisantikörper) besteht. Der Teststreifen besitzt eine Nitrocellulose-Membran, auf der in einer entsprechend ausgewiesenen Testlinie getrocknete Erfassungsantikörper für das RS-Virus vorliegen. Der Teststreifenhalter dient während der Testdurchführung und bei der anschließenden Entsorgung als Verschluss für das Konjugatröhrchen, um das Risiko eines Kontakts mit möglichen Krankheitserregern zu reduzieren.

Die Konjugat-Kugel wird zunächst im Konjugatröhrchen mit Probendiluent rehydriert. Anschließend werden die Patientenproben hinzugegeben, der Inhalt gemischt und der Teststreifen eingebracht. Bei Vorliegen von RS-Virusantigenen binden sich diese zuerst an das Konjugat aus monoklonalen Antikörpern und Goldgel. Wenn die Probe am Teststreifen entlang zur Testlinie migriert, wird der Antigen-Konjugat-Komplex an den Erfassungsantikörper gebunden, wobei sich eine rosa-rote Linie ergibt. Liegt kein Antigen vor, kommt es nicht zur Komplexbildung und es erscheint keine rosa-rote Linie an der Testlinie. Eine interne Kontrolllinie trägt zum Nachweis eines ausreichenden Flusses durch den Teststreifen während der Testdurchführung bei. Bei jedem Testen einer Probe oder Kontrolle sollte eine sichtbare rosa-rote Linie an der Kontrollposition des Teststreifens vorliegen. Ist keine rosa-rote Kontrolllinie zu sehen, ist der Test als ungültig zu erachten.

REAGENZ/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

- Teststreifen:** Ein an einem Kunststoffhalter sitzender Teststreifen in einem Folienbeutel mit Trockenmittel. Der Teststreifen enthält monoklonale Anti-RS-Virus-Erfassungsantikörper (gegen Fusions- und Nukleoprotein^{1,2}) für die Testlinien. Der Halter dient zum Verschließen des Konjugatröhrchens. Der Streifenrahmen des Halters weist aus, wo die Test- und Kontrolllinien erscheinen sollten. Den Beutel bis zum Gebrauch bei 2-25 °C lagern. Das Gerät nicht verwenden, wenn der Trockenmittelindikator (die Linie in der Mitte des Trockenmittels) von Blau nach Rosa umgeschlagen ist.
- Konjugatröhrchen:** Ein mit einer Kappe versehenes Kunststoffröhrchen mit einer Konjugat-Kugel. Das Röhrchen ist in einem Folienbeutel verpackt. Das Konjugat besteht aus Gold konjugierten Anti-RSV Nachweisantikörpern (gegen Fusions- und Nukleoprotein). Den Folienbeutel bis zum Gebrauch bei 2-25 °C lagern. Nicht im Gefrierschrank lagern. Die Kappe vor dem Gebrauch nicht entfernen.
- Probendiluent/Negative Kontrolle:** Eine gepufferte Proteinlösung in einem Kunststofffläschchen. Enthält Natriumazid (0,094 %) als Konservierungsmittel. Im Lieferzustand zu verwenden. Bis zum Gebrauch bei 2-25 °C lagern.
- Transferpipetten aus Kunststoff mit 100-, 200- und 300-µL-Volumenmarkierungen (siehe Illustration im Folgenden)
- Tru RSV-Konjugatröhrchenetiketten (zur Unterscheidung der Tru RSV-Konjugatröhrchen von den Konjugatröhrchen anderer Tru-Assays)

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

- Einmal-Handschuhe aus Latex (Atemwegsproben sind als potenziell biogefährliches Material anzusehen)
- Vortexmischer für das Suspendieren der Proben im Probendiluent (optional)
- Intervallzeitgeber
- Positive RSV-Kontrolle von Meridian Bioscience (Bestell-Nr. 751110). Inaktivierte RS-, Influenza-A- und Influenza-B-Viren in einem gepufferten Diluent mit Natriumazid (0,094 %) als Konservierungsmittel. Das Reagenz wird gebrauchsfertig geliefert. Bis zum Gebrauch bei 2-8 °C lagern. (Diese externe Kontrolle ist ein Hilfsmittel und separat erhältlich).
- Stift zum Auszeichnen

VORSICHTSMASSNAHMEN

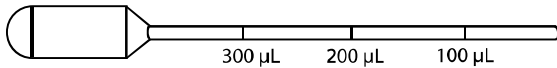
1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Keine Reagenzien nach Ablauf ihres Verfallsdatums verwenden.
3. Die Teststreifen und Konjugatröhrchen sind in Folienbeuteln verpackt, die bei der Lagerung als Feuchtigkeitsschutz dienen. Jeden einzelnen Folienbeutel vor Gebrauch inspizieren. Teststreifen oder Konjugatröhrchen, deren Folienbeutel Löcher aufweisen bzw. deren Beutel nicht vollständig verschlossen sind, nicht verwenden. Teststreifen, deren Trockenmittelindikator von Blau nach Rosa umgeschlagen ist, nicht verwenden. Das Umschlagen der Trockenmittelfarbe ist ein Anzeichen dafür, dass das Testgerät oder das Konjugatröhrchen Feuchtigkeit ausgesetzt war. In diesem Falle kann es zu falsch-negativen Reaktionen kommen.
4. Den Probendiluent-Puffer bei Verfärbung oder Trübheit nicht verwenden. Verfärbung oder Trübheit können Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination sein.
5. Die Anweisungen sind zu lesen und strikt zu befolgen.
6. Die im Reagenzienfläschchen enthaltene positive Kontrolle bei der Tropfenabgabe senkrecht halten, um eine einheitliche Tropfengröße und Aufbringung zu gewährleisten.
7. Manche Patientenproben können Krankheitserreger enthalten. Daher sind alle Patientenproben als potenziell biogefährliche Substanzen zu handhaben und zu entsorgen.
8. Die positive RSV -Kontrolle von Meridian (als Hilfsmittelreagenz erhältlich) enthält inaktivierte RS-Virus- und Influenza-Antigene und ist als potenziell infektiös zu handhaben. Dieses Reagenz enthält als Konservierungsmittel Natriumazid (0,094%), das die Haut reizt. Kontakt mit der Haut vermeiden. Während der Entsorgung von Komponenten, die Natriumazid enthalten, kann sich in Blei oder Kupfer-Laborabflussröhrchen ein potenziell explosives Metalloxid bilden. Daher müssen die Röhrchen reichlich mit Wasser nachgespült werden, um das Metalloxid herauszulösen.
9. Alle Atemwegsproben sind, ungeachtet ihrer Konsistenz, vor dem Testen gut zu mischen, um repräsentative Proben zu gewährleisten.
10. Werden Proben und Reagenzien vor dem Testen nicht auf Zimmertemperatur (20–25 °C) gebracht, kann dies die Assay-Empfindlichkeit reduzieren.
11. RS-Virus-Antigene sind relativ instabil. Die Proben müssen so gelagert werden, wie in dieser Unterlage ausgeführt. Selbst wenn die Proben in gefrorenem Zustand gelagert werden, kann die Geschwindigkeit des Antigen-Zerfalls von Probe zu Probe unterschiedlich und nicht vorhersehbar sein. Die Ausgabe von negativen Ergebnissen für Proben, die länger als zwei Wochen bei ≤ -20 °C eingefroren waren, hat mit Vorbehalt zu erfolgen, da es sich bei derartigen Ergebnissen um falsch-negative handeln kann.
12. Abstrichproben können in 0,5 bis 3 mL eines zulässigen Transportmediums transportiert werden. Bei Transportmediumvolumina von 0,5 bis 1,5 mL fallen positive Reaktionen evtl. stärker aus.
13. Das Probendiluent ist innerhalb einer Minute nach dem Entfernen des Röhrchenverschlusses in das Konjugatröhrchen zu geben.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

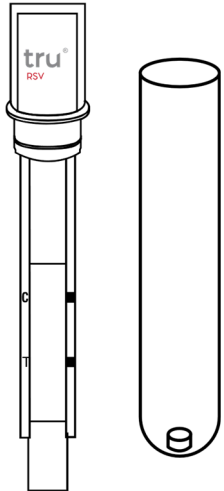
Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die Tru RSV-Transferpipette ist im Folgenden abgebildet.



Der Tru RSV-Teststreifen und die Konjugatröhrchen sind im Folgenden abgebildet.



PROBENNÄHME

Achtung: Vollblut in Konzentrationen von mehr als 2.9 % kann zu falsch-positiven Testergebnissen führen. Keine offensichtlich mit Blut kontaminierten Proben verwenden.

1. Die Proben sind in standardmäßigen Behältern zu entnehmen und zu transportieren und bis zum Testen bei 2–8 °C zu lagern. Die Proben sind so bald wie möglich zu testen, können jedoch bei 2–8 °C bis zu 72 Stunden lang aufbewahrt werden. Ist eine Testdurchführung innerhalb dieser Frist nicht möglich, können die Proben unmittelbar nach Eingang eingefroren und bis zum Testen gefroren (bei ≤ -20 °C) bis zu zwei Wochen lang gelagert werden. (Siehe den Abschnitt VORSICHTSMASSNAHMEN.) Ein einziger Gefrier-/Tauzyklus dürfte sich nicht auf die Testergebnisse auswirken.
2. Für die Probennahme eignen sich die folgenden flüssigen Transportmedien und Tupfer:
Transportmedien: M4, M4-RT, M5, UTM-RT, Stuart's, Hank's Balanced Salt, Amies, Dulbecco's PBS, 0,85-%ige Kochsalzlösung, Meridian-Virenttransportmedium (Bestell-Nr. 505021). Das Transportmediumvolumen sollte maximal 3 mL betragen, da es ansonsten auf Grund von Probenverdünnung zu falsch-negativen Ergebnissen kommen kann.
Abstrichtupfer (Tupfer/Griff): Baumwolle/Kunststoff, Rayon/Kunststoff, Nylonbeflockung/Kunststoff, Schaumstoff/Kunststoff, Polyester/Metall, Polyester/Kunststoff, Rayon/Metall, Baumwolle/Metall. **Keine Calciumalginat-Abstrichtupfer verwenden, da diese Chemikalie zur Reduzierung positiver Reaktionen führt.** Frisch entnommene Kunststoffgriffupfer sollten innerhalb von 60 Minuten getestet werden. Frisch entnommene Metallgriffupfer müssen so bald wie möglich getestet werden. Ist eine Testdurchführung innerhalb dieser Frist nicht möglich, können die Tupfer in einem bestätigten Transportmedium aufbewahrt werden.

PROBENVORBEREITUNG

Proben und Reagenzien vor dem Testen auf Zimmertemperatur (20–25 °C) bringen.

Nasenspülflüssigkeit-, Nasen-Rachen-Aspirat- oder Abstrichproben in Transportmedium:

1. Ein Konjugatröhrchen aus seinem Folienbeutel nehmen und den Beutel entsorgen. Das Röhrchen mit dem Namen des Patienten versehen. Das Röhrchen mit einem Tru RSV-Etikett versehen.
2. Die Kappe vom Konjugatröhrchen abnehmen und entsorgen.
3. Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten unverzüglich 100 µL (erste Markierung von der Pipettenspitze) Probendiluent in das Konjugatröhrchen geben. Unmittelbar in die Röhrchenmitte abgeben. Den Inhalt des Konjugatröhrchens 10 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen bzw. schwenken.
Achtung: Verdünnungsfehler können die Leistungsmerkmale des Tests beeinflussen. Die Zugabe einer unzureichenden Atemwegsprobenmenge in das Probendiluent kann ein falsch-negatives Testergebnis zur Folge haben. Die Zugabe einer zu geringen Menge an Probendiluent kann falsch-positive Testergebnisse zur Folge haben. Die Zugabe einer zu großen Probenmenge kann auf Grund der Hemmung des einwandfreien Probenflusses zu ungültigen Testergebnissen führen.
4. Die Patientenprobe ungeachtet ihrer Konsistenz mischen. Die Probe mit Hilfe einer der im Kit enthaltenen Transferpipetten behutsam jedoch gründlich mischen; hierzu den Pipettenbalg dreimal zusammendrücken. Alternativ hierzu kann das Material auch 10 Sekunden lang mit einem Vortexmischer gemischt werden.
5. Mit derselben Pipette 100 µL Probe (erste Markierung vom Pipetten-Ende) aspirieren und in das Konjugatröhrchen hinzugeben.
6. Mit Hilfe derselben Pipette Probe und Konjugat gründlich, jedoch behutsam mischen; hierzu den Pipettenbalg dreimal zusammendrücken. Alternativ hierzu kann das Material auch 10 Sekunden lang mit einem Vortexmischer gemischt werden. Die Pipette entsorgen.

Nicht in Transportmedien entnommene Nasen-, und Nasen-Rachen-Abstrichproben:

HINWEIS: Für die Entnahme von Abstrichproben ohne Transportmedium werden Kunststoffschacht-Tupfer mit Nylonbeflockung oder absorbierendem Schaumstoffmaterial empfohlen.

1. Ein Konjugatröhrchen aus seinem Folienbeutel nehmen und den Beutel entsorgen. Das Röhrchen mit dem Namen des Patienten versehen. Das Röhrchen mit einem Tru RSV-Etikett versehen.
2. Die Kappe vom Konjugatröhrchen abnehmen und entsorgen.
3. Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten unverzüglich 300 µL (dritte Markierung vom Ende der Pipettenspitze) Probendiluent in das Konjugatröhrchen geben. Unmittelbar in die Röhrchenmitte abgeben. Den Inhalt des Konjugatröhrchens 10 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen bzw. schwenken. Bei stark zähflüssigen Proben können bis zu 500 µL Probendiluent hinzugegeben werden. [Um mit Hilfe der im Kit enthaltenen Transferpipette 500 µL abzugeben, 300 µL (dritte Markierung von Ende der Pipettenspitze) aufnehmen und in das Konjugatröhrchen geben. Mit derselben Pipette weitere 200 µL (zweite Markierung von der Pipettenspitze) aufnehmen und in dasselbe Konjugatröhrchen abgeben.]

Achtung: Verdünnungsfehler können die Leistungsmerkmale des Tests beeinflussen. Die Zugabe einer unzureichenden Atemwegsprobenmenge in das Probendiluent kann ein falsch-negatives Testergebnis zur Folge haben. Die Zugabe einer zu geringen Menge an Probendiluent kann falsch-positive Testergebnisse zur Folge haben. Die Zugabe einer zu großen Probenmenge kann auf Grund der Hemmung des einwandfreien Probenflusses zu ungültigen Testergebnissen führen.

4. Den Abstrichtupfer in das Konjugatröhrchen tauchen und dreimal in der Flüssigkeit drehen. Den Abstrichtupfer beim Entnehmen an die Röhrchenwand drücken, um so viel Flüssigkeit wie möglich auszupressen. Den Abstrichtupfer entsorgen.

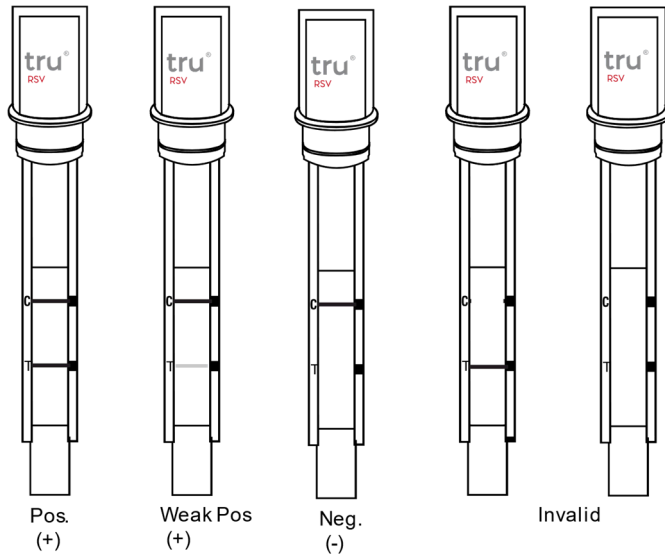
TESTDURCHFÜHRUNG

1. Den Teststreifen aus seinem Folienbeutel nehmen und den Beutel entsorgen.
2. Das schmale Ende des Teststreifens in das Konjugatröhrchen einführen und das Röhrchen durch festes Aufdrücken der Kappe verschließen.
3. 15 Minuten lang bei 20–25 °C inkubieren.
4. Die Ergebnisse innerhalb von 1 Minute vom Nitrocellulose-Streifen ablesen. Nach dieser Zeit die Ergebnisse nicht ablesen. (HINWEIS: Sollte das Ablesen der Test- bzw. Kontrolllinien schwierig sein, den Teststreifen aus dem Konjugatröhrchen nehmen. Das Konjugatröhrchen wieder mit dem Teststreifenhalter verschließen und nach Testabschluss entsorgen.)

EXTERNE KONTROLLTESTS

1. Alle Testkomponenten, Reagenzien und Proben vor dem Testen auf Zimmertemperatur (20–25 °C) bringen.
2. Zum Testen der positiven Kontrolle sowie zum Testen der negativen Kontrolle jeweils ein Konjugatröhrchen und einen Teststreifen verwenden.
3. Die Konjugatröhrchen aus ihren Folienbeuteln entnehmen und entsprechend auszeichnen. Die Beutel entsorgen.
4. Die Kappen von den Konjugatröhrchen abnehmen und entsorgen.
5. Exakt 5 Tropfen des positiven Kontrollreagenzes in das Konjugatröhrchen mit der Auszeichnung für die positive Kontrolle geben. Die Tropfen unmittelbar in die Röhrchenmitte abgeben.
6. Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten 200 µL (zweite Markierung vom Ende der Pipettenspitze) Probendiluent/negative Kontrolle in das für die negative Kontrolle bestimmte Konjugatröhrchen geben. Die Tropfen unmittelbar in die Röhrchenmitte geben.
7. Den Röhrcheninhalt 10 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen bzw. schwenken.
8. Zwei Teststreifen aus ihren Folienbeuteln nehmen und die Beutel entsorgen.
9. In jedes Konjugatröhrchen das schmale Ende eines Teststreifens einführen und die Röhrchen durch festes Aufdrücken der Kappen verschließen.
10. Beide Röhrchen 15 Minuten lang bei 20–25 °C inkubieren.
11. Die Ergebnisse innerhalb von 1 Minute vom Nitrocellulose-Streifen ablesen. Nach dieser Zeit die Ergebnisse nicht ablesen. (HINWEIS: Sollte das Ablesen der Test- bzw. Kontrolllinien schwierig sein, den Teststreifen aus dem Konjugatröhrchen nehmen. Das Konjugatröhrchen wieder mit dem Teststreifenhalter verschließen und nach Testabschluss entsorgen.)

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE



Negativer Test: Eine ROSA-ROTE Kontrolllinie. Keine sonstige Linie.

Positiver Test: Eine ROSA-ROTE Kontrolllinie und eine ROSA-ROTE RSV-Testlinie. Die Färbung der Testlinie kann heller sein, als die der Kontrolllinie. Die Testlinien können gut oder weniger gut sichtbar sein.

Schwach positives Testergebnis: Eine ROSA-ROTE Kontrolllinie und Auftreten einer sehr undeutlichen -RSV-Testlinie (deren Farbintensität der ROSA-ROTE „schwach positiven“ Testlinie in der Abbildung auf der Testkarte entspricht oder geringer ist). Schwach positive Tru RSV-Testlinien sollten mit Vorsicht interpretiert werden, da sie ein falsch-positives Testergebnis darstellen können. In den klinischen Prüfungen des Tru RSV-Assays waren 35% (23/66) der schwach positiven Tests falsch-positiv im Vergleich mit den Gewebekulturergebnissen. (Siehe auch Abschnitt GRENZEN DES VERFAHRENS). Schwach positive Testergebnisse sollten als vermutlich positiv angesehen und mittels Gewebekultur oder DSFA bestätigt werden.

Ungültige Testergebnisse:

1. Keine Linie an der als Kontrolllinie vorgesehenen Position. Der Test ist ungültig, da das Fehlen einer Kontrolllinie bedeutet, dass das Testverfahren nicht korrekt durchgeführt wurde oder dass es zu einem Zerfall der Reagenzien gekommen ist.
2. Das Erscheinen einer ROSA-ROTE Testlinie auf dem Teststreifen nach 16 Minuten langer Inkubation oder das Erscheinen einer anderen Testlinien-Farbe außer ROSA-ROTE. Zu falsch-positiven Ergebnissen kann es kommen, wenn Tests zu lange inkubiert werden. Färbungen, außer ROSA-ROTE, können auf einen Reagenzienzerfall hindeuten.

Lässt sich ein Ergebnis nur schwer interpretieren, ist der Test mit derselben Probe zu wiederholen, um die Möglichkeit eines Fehlers auszuschließen. Eine neue Probe einholen und erneut testen, falls die ursprüngliche Probe wiederholt nicht ablesbare Ergebnisse erbringt.

ERGEBNISAUSGABE

Negativer Test: Die Testergebnisse folgendermaßen ausgeben: „Keine RSV-Antigene nachweisbar. Dieses Ergebnis schließt eine Virusinfektion nicht aus.“ Negative Tests sollten durch Gewebekultur bestätigt werden.

Für RS-Viren positiver Test: Das Testergebnis folgendermaßen ausgeben: „Positiv für RSV-Antigene. Dieses Ergebnis schließt eine konkomitierende Infektion mit anderen Pathogenen nicht aus.“

QUALITÄTSKONTROLLE

Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.

Die Kitkomponenten vor jedem Gebrauch auf offensichtliche Anzeichen von Mikrobenkontamination, Gefrieren oder Flüssigkeitsaustritt sichtbar prüfen. Kontaminierte oder fragwürdige Reagenzien nicht verwenden.

Interne Verfahrenskontrollen: Interne Verfahrenskontrollen sind in den Teststreifen integriert und werden daher bei jedem Test durchgeführt.

1. Das Erscheinen einer rosa-roten Kontrolllinie dient als Verfahrenskontrolle und bedeutet, dass der Test korrekt durchgeführt wurde, dass Probe zugegeben wurde, dass der Probenfluss einwandfrei war und dass die Testreagenzien zum Gebrauchszeitpunkt aktiv waren.
2. Ein farbloser Hintergrund um die Kontroll- oder Testlinien dient als Verfahrenskontrolle. Verhindert der Hintergrund die Ergebnisablesung der Kontroll oder Testlinien, macht dies den Test ungültig und ist ein Anzeichen von Reagenzienzerfall, inadäquater Probe oder fehlerhafter Testdurchführung.

Externe Kontrollreagenzien sind gemäß den Laborvorschriften oder den einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen zu testen:

1. Anweisungen zur Durchführung dieser Kontrolltests enthält der Abschnitt EXTERNE KONTROLLTESTS.
2. Die Reaktivität jeder neuen Tru RSV-Charge und jeder neuen Tru RSV Lieferung, sollte nach Erhalt unter Heranziehung externer positiver und negativer Kontrollreagenzien bestätigt werden. Die Anzahl der zusätzlich durchzuführenden Tests mit externen Kontrollen ist abhängig von den lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen.
3. Die externen Kontrollen dienen zur Überwachung der Reagenzienreaktivität. Erbringen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, kann dies bedeuten, dass eines der Reagenzien bzw. eine der Komponenten zum Zeitpunkt der Verwendung nicht mehr reaktionsfähig war, dass der Test nicht ordnungsgemäß durchgeführt wurde, oder dass Reagenzien oder Proben nicht hinzugegeben wurden. Wenn die positiven und negativen externen Kontrollen versagen, dem Arzt die Ergebnisse nicht mitteilen.
4. Die für die Kontrollen zu erwartenden Ergebnisse sind im Abschnitt AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE erläutert.

Den Kit nicht verwenden, wenn die Kontrolltests keine korrekten Ergebnisse erbringen. **Wiederholen Sie als ersten Schritt die Kontrolltests, um die Fehlerquelle zu ermitteln. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.**

Aus diesem Grund werden die für diesen Assay hergestellten positiven und negativen Kontrollreagenzien in der Probendiluent-Matrix zubereitet. Diese Probendiluent-Matrix-Vorbereitung kann anders ausfallen als die der Proben. Falls die Zusammensetzung der Kontrollmaterialien mit der Testproben identisch sein soll, kann der Anwender dies durch Verdünnen bekanntermaßen positiver und negativer Proben mit Probendiluent gemäß dem Abschnitt PROBENVORBEREITUNG dieser Packungsbeilage erreichen.

ERWARTETE WERTE

Die Positivitätsrate jedes einzelnen Labors ist abhängig von mehreren Faktoren, darunter Probennahmemethode, Probenhandhabung und -transport, Jahreszeit, Alter des Patienten und Prävalenz von RS-Virenerkrankungen zum Zeitpunkt der Testdurchführung. Die amerikanischen Centers for Disease Control (CDC) berichten, dass es jährlich zu Ausbrüchen von RS-Virusinfektionen kommt, meist im Spätherbst, Winter oder Frühling. Die Zeit und Schwere eines Ausbruchs in einer Bevölkerungsgruppe ändert sich von Jahr zu Jahr. Die Prävalenz der RS-Virus-Infektion in den USA während der Tru RSV-Studie (Dezember 2006 bis März 2007) lag, wie von den CDC berichtet wurde, zwischen ca. 15% im Dezember und ca. 4% im März. Basierend auf den Ergebnissen der nach dem Zufallsprinzip entnommenen Proben betrug die monatliche Prävalenz der Studienzentren 43% im Dezember, 37% im Januar, 7% im Februar und 5% im März.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Es handelt sich um einen qualitativen Test, und es darf bei der Ergebnisausgabe keine quantitative Interpretation der Intensität der positiven Linie gemacht werden.
2. Die Leistung des Tru RSV-Assays wurde nicht bei über fünf Jahren alten Patienten geprüft.
3. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit den verfügbaren Daten aus der klinischen Untersuchung des Patienten und anderen Diagnostikverfahren heranzuziehen.
4. Eine übermäßige Testinkubation kann zu falsch-positiven Testergebnissen führen. Geringe Temperaturen oder Zeitdauern bei der Testinkubation können zu falsch-negativen Ergebnissen führen.
5. Antibiotika, antivirale Mittel und Interferon wurden nicht auf potenziell störende Einflüsse untersucht.
6. Mit dem Tru RSV-Assay werden lebensfähige und nicht lebensfähige RS-Viren nachgewiesen. Ob der Test mit dem Tru RSV-Assay positiv ist, hängt von der Viruslast in der Probe ab; daher kann es sein, dass ein positives Ergebnis mit dem Tru RSV-Assay nicht mit dem Ergebnis der Gewebekultur übereinstimmt.
7. Die im Test verwendeten Antikörper können möglicherweise nicht alle Antigenvarianten oder neue RS-Virus-Stämme nachweisen.
8. Ein negatives Testergebnis schließt eine RS-Virusinfektion nicht aus. Auch eine Atemwegsinfektion mit anderen Keimen kann damit nicht ausgeschlossen werden. Ein positives Testergebnis schließt eine zusätzliche Infektion mit anderen Keimen nicht aus.
9. Trockene Tupfer sind nicht so stabil wie Tupfer, die in einem Transportmedium aufbewahrt werden. Interne Studien bei Meridian haben gezeigt, dass mit Metallschaft-Tupfern die Abnützung schneller vor sich geht als mit Kunststoffschacht-Tupfern.
10. Bei allen immunchromatographischen Assays ist eine kaum oder schwer sichtbare Linie eher falsch-positiv als eine stark positive Testlinie. Wie bei allen diagnostischen Verfahren sollten die Ergebnisse des Tru RSV-Assays im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen und dem klinischen Bild beurteilt werden.

LEISTUNGSMERKMALE

In klinischen Studien wurde die Leistung des Tru RSV-Assays im Labor im Vergleich mit Gewebekulturen beurteilt. Vier unabhängige Labors in verschiedenen geographischen Regionen der USA und das Herstellerlabor untersuchten insgesamt 625 Proben von symptomatischen Patienten unter fünf Jahren, die zur Untersuchung auf RS-Viren eingesandt wurden. Drei hundert und vier dieser Proben wurden in der Saison 2006-2007 entnommen und frisch untersucht, 321 der untersuchten Proben waren eingefroren/aufgetaut. Die eingefrorenen Proben wurden während der 2006/2007-Saison oder früher entnommen und vor dem Einfrieren mittels Gewebekultur untersucht. Gleich viele Proben wurden von Jungen und Mädchen entnommen. Proben, deren Ergebnisse sich mit dem Tru RSV-Assay von den Ergebnissen mit der Gewebekultur unterschieden, wurden mit einem direkten Immunfluoreszenz Test (Direct Specimen Fluorescence Assay, DSFA) oder mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) getestet. Die Proben, die mit DSFA oder PCR RSV positiv waren, sind in den Fußnoten zu den Tabellen erwähnt.

Tabelle 1. Aufteilung der Tru RSV Ergebnisse nach Probenart

Frische Proben – Spülflüssigkeit/Aspirat		Tru RSV**	
Gewebekultur	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	64	8	72
Negativ	21*	90	111
Gesamt	85	98	183
			95% VI
Sensitivität	64/72	88,9%	79,3-95,1%
Spezifität	90/111	81,1%	73,8-88,4%
Übereinstimmung	154/183	84,2%	78,9-89,4%

* Drei der 21 Tru RSV falsch positiven Ergebnisse waren positiv mit der DSFA Methode

** Ein Tru RSV ungültiger Test

Frische Abstrichproben		Tru RSV	
Gewebekultur	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	12	1	13
Negativ	7*	100	107
Gesamt	19	101	120
			95% VI
Sensitivität	12/13	92,3%	64,0-99,8%
Spezifität	100/107	93,5%	87,0-97,3%
Übereinstimmung	112/120	93,3%	87,3-97,1%

* Vier der sieben Tru RSV falsch positiven Ergebnisse waren positiv mit der PCR Methode

Gefrorene Spülflüssigkeit/Aspirat		Tru RSV	
Gewebekultur	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	79	9	88
Negativ	12*	149	161
Gesamt	91	158	249
			95% VI
Sensitivität	79/88	89,8%	81,5-95,2%
Spezifität	149/161	92,5%	87,3-96,1%
Übereinstimmung	228/249	91,6%	87,4-94,7%

* Zwei der 12 Tru RSV falsch positiven Ergebnisse waren positiv mit der DSFA Methode

Gefrorene Abstrichproben		Tru RSV	
Gewebekultur	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	33	13	46
Negativ	1	25	26
Gesamt	34	38	72
			95% VI
Sensitivität	33/46	71,7%	56,5-84,0%
Spezifität	25/26	96,2%	80,4-99,9%
Übereinstimmung	58/72	80,6%	69,5-88,9%

HINWEIS: So wie es die Daten in der Tabelle 1 –anzeigen, sind die Leistungsmerkmale der prospektiven gefrorenen Proben vermutlich nicht die selben wie die Leistungsmerkmale der prospektiven frischen Proben.

Tabelle 2. Aufteilung der Tru RSV Ergebnisse nach Testorten

Frische Proben Spülflüssigkeit/Aspirat		Positive Proben		Negative Proben		
Ort ID	Tru/Kultur	Sensitivität %	95% VI	Tru/Kultur	Spezifität %	95% VI
1	7/8	87,5%	47,3-99,7%	31/45	68,9%	53,4-81,8%
2	3/3	100%	29,2-100%	2/2	100%	15,8-100%
4	54/61	88,5%	77,8-95,3%	57/64	89,1%	78,8-95,5%
Gefrorene Spülflüssigkeit/Aspirat		Positive Proben		Negative Proben		
Ort ID	Tru/Kultur	Sensitivität %	95% VI	Tru/Kultur	Spezifität%	95% VI
2	5/5	100%	47,8-100%	0/0	N/A	N/A
3	40/47	85,1%	71,7-93,8%	112/122	91,8%	85,4-96,0%
4	34/36	94,4%	81,3-99,3%	37/39	94,9%	82,7-99,4%
Frische Abstrichproben		Positive Proben		Negative Proben		
Ort ID	Tru/Kultur	Sensitivität %	95% VI	Tru/Kultur	Spezifität%	95% VI
2	8/9	88,9%	51,8-99,7%	11/15	73,3%	44,9-92,2%
4	3/3	100%	29,2-100%	37/37	100%	90,5-100%
5	1/1	N/A	N/A	53/55	96,4%	87,5-99,6%
Gefrorene Abstrichproben		Positive Proben		Negative Proben		
Ort ID	Tru/Kultur	Sensitivität %	95% VI	Tru/Kultur	Spezifität%	95% VI
2	1/1	100%	N/A	2/2	100%	15,8-100%
3	27/39	69,2%	52,4-83,0%	14/15	93,3%	68,0-99,8%
4	5/6	83,3%	35,9-99,6%	9/9	100%	66,4-100%

ANALYSEEMPFLINDLICHKEIT

Zur Beurteilung der Analysenempfindlichkeit wurden Verdünnungen von drei RSV-A-Stämmen (VR-26, VR-1302, VR-1540) und drei RSV-B-Stämmen (VR-955, VR-1400, VR-1401) herangezogen. Die untere Nachweisgrenze (siehe nachfolgende Tabelle) ist abhängig von Faktoren, wie bspw. den verwendeten Gewebekulturlinien, der Anzahl der Durchgänge und der Wirksamkeit der Isolierungsmethoden. Aus diesem Grund können die Nachweisgrenzen des Tests beim Testen anderer Stämme oder Proben anders ausfallen.

Stamm-ID	Stamm-Typ	Nachweisgrenze (LoD) TCID ₅₀ /mL
VR-26	A	2,49 x 10 ²
VR-1302	A	4,47
VR-1540	A	5,52 x 10 ¹
VR-955	B	4,47
VR-1400	B	1,10 x 10 ¹
VR-1401	B	2,47

REPRODUZIERBARKEIT

Assay-Präzision, Schwankungen innerhalb eines Assays sowie Schwankungen zwischen Assays wurden anhand eines Referenzprofils aus Pools negativer Proben mit einem spezifischen Viruszusatz beurteilt. Das Wiederholbarkeitsprofil bestand aus hochgradig positiven (n=2), schwach negativen (n=2) und schwach positiven (n=3) sowie hochgradig negativen Proben (n=3). Letztere wurde nahe der Empfindlichkeitsgrenze des Assays erstellt. Jede Probe wurde in drei verschiedenen Labors an drei aufeinanderfolgenden Tagen zweimal täglich untersucht. Die Wiederholbarkeit betrug bei über oder unter der Analysenempfindlichkeitsgrenze liegenden Probenzubereitungen bei 100%, ohne Schwankungen innerhalb eines Assays bzw. zwischen Assays.

KREUZREAKTIVITÄT

Die Spezifität von Tru RSV wurde unter Heranziehung der folgenden Bakterien-, Viren- und Hefestämme ermittelt. RSV positive und negative Atemwegsproben wurden mit $\geq 4 \times 10^7$ /mL Bakterien oder Hefe versetzt. Für Virusbeimpfungen wurden $\geq 6,7 \times 10^4$ TCID₅₀/mL verwendet. Keiner der getesteten Mikroorganismen zeigte bei der für RS-Viren negativen Probe ein positives Ergebnis oder störte den Nachweis der für RS-Viren positiven Probe. Die RSV negativen Atemwegsproben waren nach Zusatz von dem RS-Virus- Stamm VR-26 positiv.

Adenovirus-Typen 1, 5 und 7A, Coxsackie-Typ A9, humanen-Coronavirus Typen 229E und OC43, Cytomegalovirus, Influenza A (2 Stämme), Influenza B (1 Stamm), humane Metapneumovirus, Masern, Parainfluenza-Typen 1, 2 und 3, Rhinovirus-Typ 39, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Branhamella catarrhalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquifaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (nicht typisiert), *Streptococcus*-Gruppen A, B, D, F und G, *Streptococcus pneumoniae*.

Eine klinische Probe, die Epstein Barr Virus enthält, mit $2,32 \times 10^8$ Genom äquivalent/mL, hatte keinen Einfluss auf den Tru RSV Test.

STÖRSUBSTANZEN-TESTS

Bei direkter Einbringung in Nasenproben führten die folgenden Substanzen in den angegebenen Konzentrationen nicht zur Beeinträchtigung des Tests: Paracetamol (10 mg/mL), Acetylsalicylsäure (20 mg/mL), Albuterol (9,1 % Vol./Vol.), Halls®-Halsbonbons (20 mg/mL), Ludens®-Halsbonbons (20 mg/mL), Chlorpheniraminmaleat (1,7 mg/mL), Clemastin fumarat (5 mg/mL), Diphenhydramin-HCl (5 mg/mL), Dextromethorphan (9,1 % Vol./Vol.), Naproxen-Natrium (10 mg/mL), Phenylephrinhydrochlorid (9,1 % Vol./Vol.), Oxymetazolin (9,1 % Vol./Vol.), Guaifenesin (9,1 % Vol./Vol.), Pseudoephedrin-HCl (20 mg/mL), Listerine®-Mundwasser (9,1 % Vol./Vol.).

Vollblut in Konzentrationen von mehr als 2,9 % störte die Testinterpretation. Chlorpheniraminmaleat-Konzentrationen von mehr als 1,7 mg/mL können zu falsch-positiven Testergebnissen führen.

REFERENCES

- Cote PJ, Fernie BF, Ford EC, et al. Monoclonal antibodies to respiratory syncytial virus: determination of virus neutralization and other antigen-antibody systems using infected human and murine cells. J. Virol Meth 1981;3:137-47.
- Swenson PD, Kaplan MH. Rapid detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates by a commercial immunoassay. J. Clin Microbiol 1986;23:485-8.
- Dennehy P. Epidemiology and risk factors. In: Weisman LE et al, eds. Contemporary diagnosis and management of respiratory syncytial virus. Newtown PA. Handbooks in Health Care Co, 2000:37-71.
- Hall C. Pathology and pathogenicity. In: Weisman LE et al, eds. Contemporary diagnosis and management of respiratory syncytial virus. Newtown PA. Handbooks in Health Care Co, 2000:72-93.
- Falsey A, Walsh E. Respiratory syncytial virus infection in adults. Clin Micro Rev.2000;13:371-384.
- Tristram D. In: Murray PR et al, eds. Respiratory syncytial virus. Manual of clinical microbiology, Ed 8. Washington DC. ASM Press, 2003:1378-1388.

 Manufactured By	Meridian Bioscience, Inc. 3471 River Hills Drive Cincinnati, OHIO - 45244 USA www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+1) 513.271.3700 Customer Service/Orders 800.543.1980 Technical Support Center 800.343.3858 Information Fax: 513.272.5432 Ordering Fax: 513.271.0124 E-mail: info@meridianbioscience.com
	Meridian Bioscience Europe, SRL Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese (Milano) ITALY www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+39) 0331.433636 E-mail: info@meridianbioscience.eu Technical Support: MBE-TechService@meridianbioscience.eu Customer Service/Orders: • For Italian Customers: ordini@meridianbioscience.com • For Distributors / International Customers: Export.CustomerService@meridianbioscience.eu
	MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28 6302 Zug Switzerland

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/package of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfill the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on in-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recanti il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfano i requisiti della Direttiva 98/79/CE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 98/79/CE ou du Règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan la marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 98/79/CE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 98/79/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
			CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Risikogefahr
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Numero de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
	Consult instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgarät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
Rx Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use si el paquete esta dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	TUBE	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	CH REP	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.