

Revisions

Rev from	Rev to	ECO #
0308	0608	4815-08

Notes:

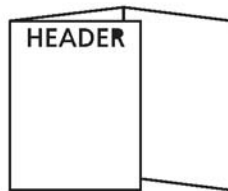
- BD Cat. Number 256030
- Blank (Sheet) Size: Length: N/A Width: N/A
 Number of Pages: N/A Number of Sheets: N/A
 Page Size: Length N/A Width N/A Final Folded Size: N/A
- Style (see illustrations below): N/A



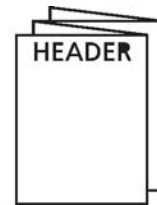
#1



#2



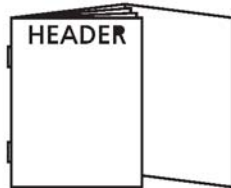
#3



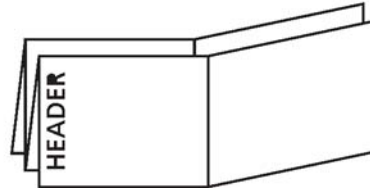
#4



#5




#6



#7

- See Specification Control Number BALTL009004 for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: N/A
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	 Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: L009004JAA		Category and Description Package Insert, Directigen EZ RSV	Sheet: 1 of 65 Scale: N/A	A

For the direct detection of
Respiratory Syncytial Virus (RSV)



Pour la détection directe du
virus respiratoire syncytial (RSV)

Für den direkten Nachweis von
Respiratory-Syncytial-Virus (RS-Virus)

Per la determinazione diretta del
virus respiratorio sinciziale (VRS)

Para a detecção directa do vírus sincicial
respiratório (RSV)

Para la detección directa del
virus sincicial respiratorio (VSR)

English:	pages	2 – 10	Italiano:	pagine	31 – 40
Français :	pages	11 – 20	Português:	páginas	41 – 50
Deutsch:	Seiten	21 – 30	Español:	páginas	51 – 60

Pokyny vám poskytne miestní zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrucțiile ziskate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar. / **Свържете се с местния представител на BD за инструкции.** / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva.



BD Directigen™ EZ RSV

For the direct detection of Respiratory Syncytial Virus (RSV)

L009004JAA
2008/06

INTENDED USE

The **Directigen™** EZ RSV test is a rapid chromatographic immunoassay for the direct and qualitative detection of Respiratory Syncytial Virus (RSV) antigen in nasopharyngeal washes, nasopharyngeal aspirates, nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal swab/washes from patients suspected of having a viral respiratory infection. This test is intended for *in vitro* diagnostic use to aid in the diagnosis of Respiratory Syncytial Virus (RSV) infections in neonatal and pediatric patients under the age of 20. It is recommended that negative test results be confirmed by cell culture.

SUMMARY AND EXPLANATION

Viral respiratory tract infections are responsible for widespread disease. Respiratory syncytial virus (RSV) is a leading cause of lower respiratory tract infections in young children during the cold season.¹ RSV has also been implicated in severe respiratory infections in the elderly and immunocompromised.^{2,3} More recently, RSV has been identified as causing 20% of “influenza-like” illness in people 15–44 years of age.⁴

Traditional methods for detection of respiratory viruses have included cell culture and direct fluorescent antibody (DFA).⁵⁻⁷ More recently, PCR has shown clinical utility for the detection of respiratory viruses including RSV.⁸ Enzyme immunoassay (EIA) and rapid manual systems are available for specific viruses such as Influenza A/B and RSV. Rapid tests allow for a quick diagnosis so that patients may be appropriately isolated and treated to prevent the nosocomial spread of infections to fellow patients with compromised cardiac, respiratory or immune functions.⁹ In addition, rapid tests assist with the selection of appropriate antiviral therapy.

The most common specimens collected for RSV testing include nasopharyngeal washes, nasopharyngeal aspirates and nasopharyngeal swabs. Nasopharyngeal washes and aspirates have been shown to be superior to swabs and are the specimens of choice.¹⁰

The **Directigen** EZ RSV antigen detection test is a chromatographic assay to detect RSV antigens extracted from various specimens of symptomatic patients. The speed and workflow of the **Directigen** EZ RSV test make it applicable as a “STAT” RSV antigen detection test, providing rapid, relevant information to assist with antiviral intervention and other clinical or support decisions.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **Directigen** EZ RSV test is a chromatographic assay to qualitatively detect RSV antigen in samples extracted from respiratory specimens. When extracted specimens are added to the test device, RSV A and/or B antigens bind to the antibody-colloidal gold conjugate in the test strip forming an antigen-antibody complex. This complex migrates across the test strip to the reaction area and is captured by the line of RSV antibody on the membrane. Excess conjugate binds to a second line consisting of inactivated RSV antigen that serves as a functional control. A positive result is indicated by the appearance of two reddish-purple lines in the read window, one line next to the Test “T” and the other next to the Control “C”. The absence of a reddish-purple line next to the “T” and the presence of a reddish-purple line next to the “C” indicate a negative result. The test is considered uninterpretable if no visible reddish-purple line is present next to the “C”.

REAGENTS

The following are included in the **Directigen** EZ RSV kit.

BD RSV Devices	30	Each device containing a control line of inactivated RSV antigen and a test line of monoclonal RSV antibody on the membrane.
Extraction Reagent E	4.0 mL	Extraction, mucolytic agent and detergent, with 0.2% sodium azide (preservative).
Control +	2.0 mL	Positive Control, detergent-treated RSV infected cells with 0.1% sodium azide (preservative).
Control –	4.0 mL	Negative Control, detergent-treated non-infected cells, with 0.1% sodium azide (preservative).
DispensTube™ Tubes	30	Tubes for specimen extraction and sample delivery into device.
DispensTube Tips	30	Tips to filter sample when delivered into device.

Materials Required But Not Provided: Pipette (capable of delivering 250 µL), timer, vortex and Transport Media (see Specimen Collection and Handling).

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

1. The RSV Control + reagent and the control line on the **BD RSV** device have been prepared from RSV-infected tissue culture cells which have been inactivated by detergent treatment and sonication then subsequently tested by bioassay procedures.
2. Do not use the kit if the Control + and Control – do not yield appropriate results.
3. Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. “Standard Precautions”¹¹⁻¹⁴ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.
4. Do not use kit components beyond the expiration date.
5. Do NOT mix reagents from different kit lot numbers. Do not reuse the device.
6. Reagents contain sodium azide, which is harmful by inhalation, in contact with skin and if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. If there is contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Storage and Handling: Kits may be stored at 2–30°C. DO NOT FREEZE. Reagents and **BD RSV** devices must be at room temperature (15–30°C) when used for testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Specimen Transport and Storage: Transport fresh specimens to the laboratory as rapidly as possible in a suitable liquid transport system. Process specimens as soon as possible after collection. If necessary, specimens may be stored at 2–8°C for up to 72 h or at –20°C for up to seven days after collection.

It is essential that the correct specimen collection and preparation methods be followed. Do not centrifuge specimens prior to use with the **Directigen EZ RSV Test**, as the removal of cellular material will adversely affect the sensitivity of the test.

Transport Media: The following transport media have been tested and found to be compatible with the **Directigen EZ RSV Test**:

Normal Saline	Trypticase™ Soy Broth + 0.5% gelatin*
Phosphate Buffered Saline (PBS)	Trypticase Soy Broth + 0.5% BSA
PBS + 0.5% gelatin*	Earle’s Minimal Essential Medium (EMEM)
PBS + 0.5% Bovine Serum Albumin (BSA)	EMEM + 0.5% BSA
Veal Infusion Broth (VIB)	EMEM + 1% BSA
VIB + 0.5% BSA	EMEM + 0.5% lactalbumin hydrolysate
Hank’s Balanced Salt Solution	EMEM + 1.0% lactalbumin hydrolysate
M4 Media*	Modified Stuart’s (liquid) CultureSwab™
M4-RT Media*	Amies (liquid) CultureSwab
M5 Media	Starplex Multitrans™*
Bartels ViraTrans™ Media	BD™ Universal Viral Transport Medium*
Sucrose Phosphate (2-SP)	

*Medium contains gelatin.

Specimen Collection and Preparation: Nasopharyngeal washes and aspirates have been shown to be superior to nasopharyngeal swabs and are the specimens of choice.^{9,10} Acceptable specimens for testing with the **Directigen EZ RSV test** include nasopharyngeal washes, nasopharyngeal aspirates, nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal swab/washes.

NOTE: For nasopharyngeal swabs (NPS), polyester or rayon-tipped swabs with an aluminum wire are recommended. Flocked swabs have been analytically tested and have been found to be compatible with the **Directigen EZ RSV test**.¹⁵ Calcium alginate-tipped swabs are not acceptable for collection of viral specimens.¹⁶

Procedure for Nasopharyngeal Washes and Nasopharyngeal Swab/Washes:

1. Sample volumes of 2–3 mL are recommended.
2. Excessive wash or lavage volumes should be avoided as they may result in decreased test sensitivity.
3. Process specimen as described in “Test Procedure.”

Procedure for Nasopharyngeal Swabs:

1. Swab specimens may be added to 350 µL–2 mL of transport medium.

2. Vortex the swab and transport medium.
3. Remove as much liquid from the swab as possible.
NOTE: Alternatively swab may be left in tube.
4. Dispose the swab into appropriate container.
5. Process specimen as described in "Test Procedure."

Procedure for Nasopharyngeal Aspirates:

1. Specimens may be dispersed in 1–3 mL of transport medium or saline prior to processing.
2. Process specimen as described in "Test Procedure."

PROCEDURE

Test Procedure

NOTES:

- Reagents, specimens and **BD RSV** devices must be at room temperature (15–30°C) when used for testing.
- Thoroughly mix all specimens prior to removal of an aliquot for extraction. Do not centrifuge specimens prior to use with the **Directigen EZ RSV** test, as the removal of cellular material will adversely affect the sensitivity of the test.
- To assure proper delivery, **DispensTube** tubes and reagent bottles must be held vertically (approximately one inch from the **BD RSV** device sample well or **DispensTube**), while gently dispensing one drop at a time, in quick succession.

1. Remove a **BD RSV** device from its foil pouch immediately before use.
2. Label a **BD RSV** device and a **DispensTube** tube for the control or specimen to be tested.
3. Place the labeled **DispensTube** in the designated area of the workstation or rack.
4. Gently mix Extraction Reagent E by inversion. Dispense 3 drops into the **DispensTube**. Hold reagent bottle vertically (approximately one inch from the **DispensTube**) while dispensing drops.



5. Thoroughly mix the sample or control and process as directed below:
 - a. For specimens:
 1. Vortex or thoroughly mix specimen. Do not centrifuge.
 2. Pipette 250 µL of specimen into **DispensTube**.

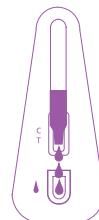


- b. For Controls:
 1. Gently mix the Control + and Control – vials.
 2. Add 6 drops of Control + to the appropriate **DispensTube**.
 3. Add 6 drops of Control – to the appropriate **DispensTube**.

6. Insert a **DispensTube Tip** into each **DispensTube**.
NOTE: Do not use tips from other Directigen products.

7. Vortex or mix thoroughly.
8. Invert the **DispensTube** and holding the tube on the upper half, away from the tip, gently squeeze three (3) drops of the extracted specimen into the appropriately labeled **BD RSV** sample well.

NOTE: Squeezing the tube close to the tip may result in ejection of the tip and leakage of the contents from the tube.



9. Read results at 15 min or up to 60 min. Positive results may be reported as soon as 5 min as long as the test and control line are visible.

NOTE: If using a gelatin-containing transport medium, results must be read at 15 min. See "Limitations of the Procedure."

10. Read in a well-lighted area and record the test result.

Quality Control:

Quality control requirements must be performed in accordance with local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to CLSI (formerly NCCLS) EP12-A¹⁷ and 42 CFR 493.1202 (c)¹⁸ for guidance on appropriate Quality Control practices.

Each BD RSV device contains built-in controls. Built-in control features include:

Internal Control: The appearance of a reddish-purple control line provides an internal antigen control (positive internal control) that serves as a reagent check for the conjugate and capture antibody as well as ensuring sufficient capillary flow has occurred. The absence of this line indicates an uninterpretable test.

Test Membrane Control (negative internal control): The unreactive membrane surface surrounding the positive internal control and test lines contrasts with a positive reaction and therefore serves as a background reference for interpreting reaction color.

External Positive and Negative Controls:

Liquid Positive (Control +) and Negative (Control -) controls are also supplied with each kit. These controls are provided as a means of additional quality control to demonstrate a positive or negative reaction. The external controls should be run as a quality control procedure for each new lot or shipment received. The formation of the reddish-purple line in the read window next to the "T" when the Control + is employed further indicates that the RSV antigen binding property of the membrane is functional. Do not report results if either the Control + or the Control - do not give appropriate results.

The liquid controls may also be used to demonstrate a low positive reaction. A weaker positive reaction may be demonstrated by dilution of both Control + and Control - together in the same **DispensTube** (3 drops Control + and 3 drops of Control -).

If expected control results are not obtained, do not report patient results. Contact your local BD representative or Technical Services for assistance.

INTERPRETATION OF RESULTS



Positive Test (antigen present) – A visible reddish-purple line appears in the read window next to the Test "T", and a reddish-purple line next to the Control "C". This indicates RSV antigen was detectable in the specimen. The background area should be white to light pink.

+



Negative Test (no antigen detected) – No reddish-purple line is visible next to the Test "T". This indicates RSV antigen was not detectable in the specimen. A reddish-purple line next to the Control "C" indicates proper performance of test procedure and reagents. The background area should be white to light pink.

-



Uninterpretable Test – If a reddish-purple line next to the Control "C" is not visible or the background color interferes with interpretation of the test or control lines, the test is uninterpretable. An uninterpretable test must be repeated, a new specimen obtained and retested, or the specimen sent to the clinical laboratory for culture isolation.

uninterpretable

REPORTING OF RESULTS

Positive Positive for the presence of RSV antigen. A positive result may occur in the absence of viable virus.

Negative Negative for the presence of RSV antigen. Infection due to RSV cannot be ruled-out since the antigen present in the sample may be below the detection limit of the test. Culture confirmation of negative samples is recommended.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The **Directigen EZ RSV** test is capable of detecting both viable and non-viable RSV particles. The **Directigen EZ RSV** test performance depends on antigen load and may not correlate with tissue culture performed on the same specimen. The etiology of respiratory infection caused by microorganisms other than Respiratory Syncytial Virus cannot be established with this test.
2. Inadequate specimen collection, improper sample handling/transport or low levels of virus shedding may yield a false-negative result. Accordingly, a negative test result does not eliminate the possibility of an RSV infection. As with all diagnostic procedures, the results obtained with the **Directigen EZ RSV** test should be used in conjunction with other clinical information available to the physician.
3. In chromatographic immunoassays, weakly visible lines are more likely to be false positives than are strongly visible lines. As with all diagnostic procedures, the results obtained with the **Directigen EZ RSV** test should be used in conjunction with other clinical information available to the physician.
4. The validity of the **Directigen EZ RSV** test has not been proven for identification/confirmation of tissue culture isolates and should not be used in this capacity.
5. Contents of the transport medium being used should be carefully reviewed to determine whether or not it contains gelatin. If using a gelatin-containing transport medium, results must be read at 15 min. Extending read time beyond 15 min may result in the appearance of faint lines in the test (T) position of the read window.
6. Amies Gel **CultureSwab™ Plus** medium is not compatible with the **Directigen EZ RSV** test. Storing specimens in this medium over time may cause a potential false negative result.
7. Cross-reactivity of this assay with human metapneumovirus has not been studied.
8. Monoclonal antibodies may not detect all antigenic variants or new strains of RSV.
9. The **Directigen EZ RSV** test has not been evaluated with a sufficient number of lower respiratory specimens, lower nasal swabs, nose/throat swabs and pharyngeal swabs to estimate performance characteristics with these specimen types.

EXPECTED VALUES

The rate of positivity observed in RSV testing will vary depending on the method of specimen collection, handling/transport system employed, detection method utilized, time of year, age of the patient, geographic location and most importantly, local disease prevalence. The prevalence observed with culture during the clinical study ranged from 4.2–46.5%.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics for the **Directigen EZ RSV** test were established in a multi-center study conducted at seven clinical centers during the 2001–2002 RSV season. The clinical centers were located in Canada and geographically diverse areas within the United States.

All specimens were collected and transported to the laboratory according to each laboratory's procedure. Each specimen was evaluated with the **Directigen EZ RSV** test, cell culture and the laboratory's routine method (i.e., DFA, EIA). Any remaining specimen was archived at or below –20°C.

For cell culture, a portion of the specimen was inoculated into cell lines appropriate for respiratory viral culture according to each laboratory's procedure. Cells were examined for the appearance of cytopathic effects (CPE). Infected cells were confirmed for RSV by immunofluorescent staining. Specimens negative for CPE at fourteen days were stained for negative confirmation by species-specific immunofluorescent staining.

A total of 1176 specimens, consisting of nasopharyngeal wash, nasopharyngeal aspirate, nasopharyngeal swab and nasopharyngeal swab/wash, from patients suspected of having RSV were evaluated with the **Directigen EZ RSV** test.

Clinical Performance: For all specimens evaluated, the overall sensitivity and specificity of the **Directigen EZ RSV** test for RSV when compared to culture were 80% and 91%, respectively. The overall uninterpretable rate was 0%. The performance characteristics of the **Directigen EZ RSV** as compared to cell culture for each specimen type are shown in Table 1. The performance characteristics as compared to cell culture by clinical site are shown in Table 2.

Table 1: Summary of the Performance of the Directigen EZ RSV (EZ) Test Compared to Culture for all Specimen Types

		Culture/EZ					
Specimen Type	n	+/+	-/+ ^a	+/-	-/-	Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)
Nasopharyngeal Wash (NPW)	348	129	29	19	171	87.2 (80.7–92.1)	85.5 (79.8–90.1)
Nasopharyngeal Aspirate (NPA)	401	90	24	27	260	76.9 (68.2–84.2)	91.6 (87.7–94.5)
Nasopharyngeal Swab/Wash (NPSW)	160	28	6	11	115	71.8 (55.1–85.0)	95.0 (89.7–98.2)
Nasopharyngeal Swab (NPS)	267	20	20	10	217	66.7 (47.2–82.7)	91.6 (87.3–94.8)

(+) = RSV positive (-) = RSV negative

^a The PCR method used to test the culture negative, **Directigen EZ RSV** positive specimens is not an FDA-cleared method.

There were 79 specimens that were culture negative, **Directigen EZ RSV** test positive. PCR testing was performed on 73 of the 79 specimens; a total of 46 of the 73 specimens were positive by PCR.

Table 2: Summary of the Performance of the Directigen EZ RSV (EZ) Test Compared to Culture by Clinical Site

			Culture/EZ					
Site	Specimen Type	n	+/+	-/+	+/-	-/-	Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)
Site 1	50% NPW 45% NPA 5% NPS	38	11	2	0	25	100 (71.5–100)	92.6 (83.8–99.4)
Site 2	100% NPW	173	56	18	15	84	78.9 (67.6–87.7)	82.4 (73.6–89.2)
Site 3	59% NPA 37% NPW 4% NPS	195	79	24	13	79	85.9 (77.1–92.3)	76.7 (67.3–84.5)
Site 4	100% NPS	207	4	17	5	181	44.4 (13.7–78.8)	91.4 (86.6–94.9)
Site 5	73% NPSW 24% NPS 2% NPW 1% NPA	219	46	8	15	150	75.4 (62.7–85.5)	94.9 (90.3–97.8)
Site 6	100% NPW	77	31	0	3	43	91.2 (76.3–98.1)	100 (91.8–100)
Site 7	100% NPA	267	40	10	16	201	71.4 (57.8–82.7)	95.3 (91.5–97.7)

(+) = RSV positive (-) = RSV negative

Directigen EZ RSV positive test results were distributed over a range of weakly visible to strongly visible lines. Of the 70 **Directigen EZ RSV** positive specimens with weakly visible lines, 39 were culture positive and a total of 58 were positive by one or more methods (i.e., culture, DFA, EIA, or PCR^a). Of the 170 **Directigen EZ RSV** positive specimens with visible lines, 130 were culture positive while a total of 166 were positive by one or more methods (i.e., culture, DFA, EIA, or PCR^a). Of the 106 **Directigen EZ RSV** positive specimens with strongly visible lines, 98 were culture positive while a total of 106 were positive by one or more methods (i.e., culture, DFA, EIA, or PCR^a).

^a The PCR method used to test the culture negative, **Directigen EZ RSV** positive specimens is not an FDA-cleared method.

Reproducibility: The reproducibility of the **Directigen EZ RSV** test was evaluated at three sites. The reproducibility panel was composed of 12 simulated RSV samples and included four replicates of a low positive level (near the Limit of Detection [LOD]) and four replicates of a moderate positive level of RSV antigen seeded into the negative control diluent. The panel also included four simulated RSV negative samples that were the unseeded negative control diluent. The overall reproducibility for the **Directigen RSV EZ** test was 99.1%.

Analytical Studies

Analytical Sensitivity (Limit of Detection)

The limit of detection (LOD) for the **Directigen EZ RSV** test was established for a total of five RSV strains; two RSV A and three RSV B strains.

Type	RSV Viral Strain	LOD (TCID ₅₀)*
A	RSV (Long)	3.95 x 10 ³
A	RSV (A-2)	7.9 x 10 ³
B	RSV (9320)	4.05 x 10 ²
B	RSV (Washington)	7.03 x 10 ³
B	RSV (Wild-type)	5.56 x 10 ²

* TCID₅₀ = Tissue Culture Infectious Dose at which 50% of cells are lysed.

Analytical Specificity

The **Directigen EZ RSV** test was evaluated using a total of 99 microorganisms (58 bacteria, two yeasts and 39 viruses). Bacteria and yeasts were tested at concentrations of 10⁸ CFU/mL. *Mycoplasma orale* was tested at >10⁷ CFU/mL. *Mycoplasma pneumoniae* was tested at >10⁶ CCU/mL (CCU – color changing units). *Mycobacterium tuberculosis* was tested at 7.0 x 10⁶ CFU/mL. Viral isolates were tested at titers between 10^{3.5} to 10^{9.5} TCID₅₀/0.20 mL. Influenza viruses were tested at titers of 10^{3.5} to 10^{9.5} CEID₅₀**/0.20 mL. None of the microorganisms listed gave a positive result in the **Directigen EZ RSV** test.

** CEID₅₀ = Chick Embryo Infectious Dose at 50% of chick embryo infected.

Bacteria and Yeast Panel		
<i>Acinetobacter baumannii</i> (calcoaceticus)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp <i>minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> - Cowan
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II Group D
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> Group A
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus sp.</i> Group B
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	<i>Streptococcus sp.</i> Group C
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus sp.</i> Group F
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus sp.</i> Group G
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Prevotella oralis</i>	
<i>Kingella kingae</i>		

Viral Panel

Adenovirus, Type 3	Influenza B/GL/1739/54
Adenovirus, Type 5	Influenza B/Hong Kong/5/72
Adenovirus, Type 7	Influenza B/Lee/40
Adenovirus, Type 10	Influenza B/Allen/45
Adenovirus, Type 18	Influenza B/Maryland/1/59
Coronavirus	Influenza B/Taiwan/2/62
Coxsackievirus Type A9 (Griggs)	Influenza C/Taylor/1233/47
Coxsackievirus Type A9 (P.B. Bozek)	Measles virus
Coxsackievirus Type B5	Mumps virus
Coxsackievirus Type B6	Parainfluenza Type 1
Coxsackievirus Type A21	Parainfluenza Type 2
Cytomegalovirus	Parainfluenza Type 3
Echovirus Type 2	Rhinovirus Type 1A
Echovirus Type 3	Rhinovirus Type 2
Echovirus Type 6	Rhinovirus Type 13
Echovirus Type 11	Rhinovirus Type 15
Herpes Simplex Virus Type 1	Rhinovirus Type 16
Herpes Simplex Virus Type 2	Rhinovirus Type 37
Influenza A (H1N1)	Varicella-Zoster Virus
Influenza A (H3N2)	

Interfering Substances

Various substances were tested in the **Directigen** EZ RSV test including whole blood at 2%, over the counter (OTC) drugs and prescription drugs. No interference was noted in the assay for any substance at the levels tested.

Non-Prescription Medications (OTC)

Three OTC mouthwashes at 25%	Diphenhydramine HCl at 5 mg/mL
Three OTC throat drops at 25%	Pseudoephedrine HCl at 20 mg/mL
Three OTC nasal sprays at 10%	Guaiacol Glyceryl Ether at 20 mg/mL
4-Acetamidophenol at 10 mg/mL	Ibuprofen at 10 mg/mL
Acetylsalicylic acid at 20 mg/mL	Oxymetazoline at 0.05 mg/mL
Chlorpheniramine maleate at 5 mg/mL	Phenylephrine at 1 mg/mL
Dextromethorphan at 10 mg/mL	

Prescription Medications

Zanamavir at 1 mg/mL	Ribavirin at 500 ng/mL
Amantadine at 500 ng/mL	Synagis at 0.1 mg/mL
Rimantadine at 500 ng/mL	Albuterol Sulfate at 0.083 mg/mL

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
256030	Directigen™ EZ RSV 30 Test Kit
220115	BBL™ CultureSwab™ Sterile Single Swab, Pkg. of 100
220131	BBL™ CultureSwab™ Liquid Amies, Flexible Aluminum Wire, Pkg. of 50
220134	BBL™ CultureSwab™ Liquid Stuart, Flexible Aluminum Wire, Pkg. of 50
220220	BD™ Universal Viral Transport 3 mL Vial, Ctn. of 50
220250	Regular Flocked Swab, Sterile Single Wrapped, Ctn. of 100
220251	Minitip Flocked Swab, Sterile Single Wrapped, Ctn. of 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, Sterile Single Wrapped, Ctn. of 100

REFERENCES

1. CDC. 1999. Update: respiratory syncytial virus activity—United States, 1998-1999 season. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 48:1104-1115.
2. Falsey, A.R. and E. E. Walsh. 2000. Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clinical Microbiology Review*. 13: 371-384.
3. Englund, J.A., P. A. Peidra, A. Jewell, K. Patel, B. B. Baxter and E. Whimbey. 1996. Rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections in immunocompromised adults. *J. Clin. Microbiol.* 34:1649-1653.
4. Crowcroft, N.S., F. Cutts and M.C. Zambon. 1999. Respiratory syncytial virus: an underestimated cause of respiratory infection, with prospects for a vaccine. *Communicable Disease Public Health*. 2: 234-241.
5. Hughes, J.D., D. A. Mann and V. V. Hamparian. 1988. Detection of respiratory syncytial virus in clinical specimens by viral culture, direct and indirect immunofluorescence, and enzyme immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* 226:588-591.
6. Ahluwalia, G.J., J. Embree, P. McNicol, B. Law and G. W. Hammond. 1987. Comparison of nasopharyngeal aspirate and nasopharyngeal swab specimens for respiratory syncytial virus diagnosis by cell culture, indirect immunofluorescence assay, and enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 25: 763-767.
7. Waner, J.L., N. J. Whitehurst, S. J. Todd, H. Shalaby and L. V. Wall. 1995. Comparison of Directigen RSV with viral isolation and direct immunofluorescence for the identification of respiratory syncytial virus. *J. Clin. Microbiol.* 25: 763-767.
8. Kehl, S.C., K. J. Henrickson, W. Hua and F. Jiang. 2001. Evaluation of the hexaplex assay for detection of respiratory viruses in children. *J. Clin. Microbiol.* 39:1696-1701.
9. Barenfanger, J., C. Drake, N. Leon, T. Mueller and T. Trout. 2000. Clinical and financial benefits of rapid detection of respiratory viruses: an outcomes study. *J. Clin. Microbiol.* 38:2824-2828.
10. Heikkinen, T., J. Marttila, A. Salmi, and O. Ruuskanen. 2002. Nasal Swab versus Nasopharyngeal Aspirate for Isolation of Respiratory Viruses. *J. Clin. Microbiol.* 40:4337-4339.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. CLSI, Wayne, PA.
12. Garner, J. S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U. S. Department of Health and Human Services, Center for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53-80.
13. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
14. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.*
15. Data on file, BD Diagnostics.
16. Smith, T.F. 2000. Specimen requirements; selection, collection, transport, and processing *In* S. Spector, R.L. Hodinka, and S.A. Young (eds.), *Clinical virology manual*, 3rd ed., ASM Press, Washington, D.C.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). 2002. Approved guideline: EP12-A. User protocol for evaluation of qualitative test performance, CLSI, Wayne, PA.
18. Federal Register. 2001. Quality control for tests of moderate complexity (including the subcategory), high complexity, or any combination of these tests. Code of Federal Regulations 42(3):493.1202.



BD Directigen EZ RSV

Pour la détection directe du virus respiratoire syncytial (RSV)

Français

APPLICATION

Le test RSV **Directigen EZ** est un dosage immunologique chromatographique rapide conçu pour la détection qualitative directe d'antigène de virus syncytial respiratoire (RSV) dans les lavages, les aspirations et les écouvillonnages rhino-pharyngiens, et les écouvillonnages/lavages rhino-pharyngiens en cas de suspicion d'infection respiratoire virale. Ce test, réservé au diagnostic *in vitro*, s'utilise pour aider au diagnostic des infections à virus respiratoire syncytial (RSV) chez le nouveau-né, l'enfant et l'adolescent âgé de moins de 20 ans. Il est recommandé de confirmer les résultats négatifs par mise en culture sur cellules.

RESUME ET EXPLICATION

Les infections virales des voies respiratoires sont responsables de maladies répandues. Le virus respiratoire syncytial (RSV) est l'une des principales causes d'infection des voies respiratoires inférieures chez les jeunes enfants pendant la saison froide.¹ Le RSV est également impliqué dans les infections respiratoires graves chez les personnes âgées ou immunocompromises.^{2,3} Plus récemment, on a montré que le RSV est responsable de 20 % des affections pseudo-grippales chez les personnes âgées de 15 à 44 ans.⁴

Les méthodes conventionnelles de détection des virus respiratoires comprennent notamment la culture sur cellules et l'immunofluorescence directe.⁵⁻⁷ Plus récemment, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) a démontré son utilité clinique pour la détection des virus respiratoires dont le RSV.⁸ Des dosages immuno-enzymatiques et des systèmes manuels rapides existent pour des virus spécifiques comme H. influenza de type A et B et le RSV. Les tests rapides fournissent un diagnostic rapide qui permet de mettre les patients en isolement et de les soigner de façon à empêcher la contagion nosocomiale des infections à d'autres malades aux fonctions cardiaque ou respiratoire déficientes ou au système immunitaire compromis.⁹ Les tests rapides facilitent en outre le choix du traitement antiviral approprié.

Les échantillons utilisés pour le dépistage du RSV sont habituellement prélevés par lavage, aspiration ou écouvillonnage rhino-pharyngien. Préférer les échantillons prélevés par lavage ou aspiration rhino-pharyngienne aux écouvillonnages.¹⁰

Le test de détection d'antigène **Directigen EZ RSV** est un dosage chromatographique conçu pour la détection d'antigène de RSV dans différents échantillons recueillis chez des patients symptomatiques. La rapidité et le mode d'utilisation du test **Directigen EZ RSV** en font un test de détection d'antigène de RSV « d'urgence » qui fournit rapidement des éléments d'information pertinents pour aider à choisir un traitement antiviral et à prendre les autres décisions cliniques à mettre en œuvre.

PRINCIPES DE LA METHODE

Le test **Directigen EZ RSV** est un dosage chromatographique conçu pour la détection qualitative d'antigène de RSV dans des échantillons issus de prélèvements respiratoires. Lorsque les échantillons extraits sont ajoutés au dispositif de test, les antigènes de RSV A et/ou B se lient aux conjugués d'anticorps et d'or colloïdal dans la bandelette réactive en formant un complexe antigène-anticorps. Ce complexe migre à travers la bandelette réactive vers la zone réactionnelle où il est capturé par la ligne d'anticorps anti-RSV présents sur la membrane. Le conjugué en excès se lie à une seconde ligne composée d'antigène de RSV inactivé qui sert de témoin fonctionnel. Un résultat positif est indiqué par l'apparition de deux lignes de couleur rouge pourpre dans la fenêtre de lecture, une ligne à côté du « T » de test et une autre ligne à côté du « C » témoin. L'absence de ligne de couleur rouge pourpre à côté du « T » et la présence d'une ligne rouge pourpre à côté du « C » indiquent un résultat négatif. Le test est considéré non interprétable si aucune ligne rouge pourpre n'est visible à côté du « C ».

REACTIFS

La trousse **Directigen EZ RSV** comprend les éléments suivants.

Dispositifs BD RSV	30	Chaque dispositif contient une ligne témoin d'antigène de RSV inactivé et une ligne réactionnelle d'anticorps monoclonal anti-RSV sur la membrane.
Réactif d'extraction E	4,0 mL	Extraction : agent mucolytique et détergent, 0,2 % d'azide de sodium (conservateur).
Témoin +	2,0 mL	Témoin positif : cellules infectées par RSV et inactivées au détergent, avec 0,1 % d'azide de sodium (conservateur).
Témoin –	4,0 mL	Témoin négatif : cellules non infectées par RSV et inactivées au détergent, avec 0,1 % d'azide de sodium (conservateur).
Tubes DispensTube	30	Tubes pour l'extraction de l'échantillon et sa distribution dans le dispositif.
Embouts DispensTube	30	Embouts de filtration pour la distribution de l'échantillon dans le dispositif.

Matériel requis mais non fournis : pipette (capable de distribuer 250 µL), minuterie, vortex et milieux de transport (voir la section « Prélèvement et manipulation des échantillons »).

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

1. Le témoin + pour RSV et la ligne témoin du dispositif **BD RSV** ont été préparés à partir de cellules en culture infectées par RSV, inactivées par traitement au détergent et aux ultrasons, puis contrôlées par dosage biologique.
2. Ne pas utiliser la trousse si le témoin + et le témoin – ne donnent pas les résultats escomptés.
3. Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »¹¹⁻¹⁴ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.
4. Ne pas utiliser les composants de la trousse au-delà de la date de péremption.
5. NE PAS mélanger de réactifs provenant de trousses portant des numéros de lot différents. Ne pas réutiliser le dispositif.
6. Les réactifs contiennent de l'azide de sodium, lequel est toxique par inhalation, contact avec la peau ou ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. En cas de contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Rincer avec un grand volume d'eau lors de l'élimination pour éviter l'accumulation d'azides.

Manipulation et conservation : conserver les trousses à une température comprise entre 2 et 30 °C. NE PAS CONGELER. Les réactifs et les dispositifs **BD RSV** doivent se trouver à température ambiante (15 à 30 °C) au moment du test.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Transport et conservation des échantillons : transporter les échantillons frais au laboratoire (aussi rapidement que possible) dans un milieu liquide de transport approprié. Traiter les échantillons aussitôt que possible après le prélèvement. Si nécessaire, les échantillons peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C jusqu'à 72 h ou à -20 °C jusqu'à sept jours après le prélèvement.

Il est indispensable de se conformer à la méthode adéquate de prélèvement et de préparation des échantillons. Ne pas centrifuger les échantillons avant leur utilisation avec le test **Directigen EZ RSV**, la perte de matériel cellulaire risquant de diminuer la sensibilité du test.

Milieux de transport : les milieux de transport suivants ont été testés et se sont avérés compatibles avec le test **Directigen EZ RSV** :

Sérum physiologique normal
Sérum physiologique tamponné au phosphate (PBS)
PBS + 0,5 % de gélatine*
PBS + 0,5 % de sérum albumine bovine (SAB)
Bouillon d'infusion de veau (VIB)
VIB + 0,5 % SAB
Solution saline équilibrée de Hank
Milieu M4*
Milieu M4-RT*
Milieu M5
Milieu Bartels ViraTrans
Phosphate de saccharose (2-5P)

Bouillon de soja **Trypticase** + 0,5 % de gélatine*
Bouillon de soja **Trypticase** + 0,5 % de SAB
Milieu essentiel minimum d'Earle (EMEM)
EMEM + 0,5 % SAB
EMEM + 1 % SAB
EMEM + 0,5 % d'hydrolysate de lactalbumine
EMEM + 1,0 % d'hydrolysate de lactalbumine
Stuart modifié (liquide) **CultureSwab**
Amies (liquide) **CultureSwab**
Starplex Multitrans*
Milieu de transport viral universel **BD***

*Le milieu contient de la gélatine.

Prélèvement et préparation des échantillons : préférer les échantillons prélevés par lavage ou aspiration rhino-pharyngienne aux écouvillonnages rhino-pharyngiens.^{9,10} Les échantillons pouvant être testés avec le test **Directigen EZ RSV** comprennent les lavages, aspirations et écouvillonnages rhino-pharyngiens, ainsi que les écouvillonnages/lavages rhino-pharyngiens.

REMARQUE : un écouvillon à embout polyester ou rayonne muni d'un fil d'aluminium est recommandé pour réaliser un écouvillonnage rhino-pharyngien. Les écouvillons en nylon floqué ont été testés dans des études analytiques internes et se sont avérés compatibles avec le test **Directigen EZ RSV**.¹⁵ Les écouvillons à embout en alginate de calcium ne sont pas acceptables pour le prélèvement des échantillons viraux.¹⁶

Procédure pour les lavages rhino-pharyngiens et les écouvillonnages/lavages rhino-pharyngiens :

1. Prélever de préférence 2 à 3 mL d'échantillon.
2. Éviter de recourir à un volume de lavage trop important pour ne pas risquer de diminuer la sensibilité du test.
3. Traiter l'échantillon comme indiqué au paragraphe « Procédure de test ».

Procédure pour les écouvillonnages rhino-pharyngiens :

1. Ajouter 350 µL à 2 mL de milieu de transport à ces écouvillonnages.
2. Vortexer l'écouvillon et le milieu de transport.
3. Extraire le maximum de liquide de l'écouvillon.

REMARQUE : l'écouvillon peut également demeurer dans le tube.

4. Jeter l'écouvillon dans un récipient prévu à cet effet.
5. Traiter l'échantillon comme indiqué au paragraphe « Procédure de test ».



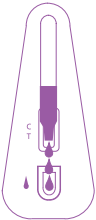
Procédure pour les aspirations rhino-pharyngiennes :

1. Il est possible de disperser les échantillons dans 1 à 3 mL de milieu de transport ou de sérum physiologique avant de les traiter.
2. Traiter l'échantillon comme indiqué au paragraphe « Procédure de test ».

PROCEDURE

Procédure de test

REMARQUES :

- Les réactifs, les échantillons et les dispositifs **BD RSV** doivent se trouver à température ambiante (15 à 30 °C) au moment du test.
 - Bien mélanger tous les échantillons avant de prélever une aliquote pour procéder à l'extraction. Ne pas centrifuger les échantillons avant utilisation avec le test **Directigen EZ RSV**, la perte de matériel cellulaire risquant de diminuer la sensibilité du test.
 - Pour une bonne distribution des réactifs, tenir les tubes **DispensTube** et les flacons de réactifs verticalement (à environ 2,5 cm de la surface du puits d'échantillon du dispositif **BD RSV** ou du **DispensTube**) et faire tomber rapidement les gouttes une à une.
1. Ne déballer le dispositif **BD RSV** qu'au moment de l'utiliser.
 2. Étiqueter un dispositif **BD RSV** et un tube **DispensTube** pour le témoin ou l'échantillon à tester.
 3. Placer le tube **DispensTube** étiqueté dans le logement correspondant du poste de travail ou du portoir.
 4. Mélanger doucement le réactif d'extraction en inversant le tube. Distribuer 3 gouttes de ce réactif dans le tube **DispensTube**. Maintenir la bouteille de réactif verticalement (à environ 2,5 cm du tube **DispensTube**) tout en distribuant les gouttes.
- 
5. Bien mélanger l'échantillon ou le témoin et le traiter suivant la procédure ci-dessous :
 - a. Echantillons :
 1. Vortexer ou mélanger soigneusement l'échantillon. Ne pas centrifuger.
 2. Distribuer à la pipette 250 µL d'échantillon dans le tube **DispensTube**.
 - b. Témoins :
 1. Mélanger doucement les flacons de témoin + et de témoin -.
 2. Ajouter 6 gouttes de témoin + au tube **DispensTube** approprié.
 3. Ajouter 6 gouttes de témoin - au tube **DispensTube** approprié.
 6. Introduire un embout **DispensTube** dans chaque tube **DispensTube**. **REMARQUE : ne pas utiliser d'embouts provenant d'autres produits Directigen.**
 7. Vortexer ou mélanger soigneusement.
 8. Inverser le tube **DispensTube** et, en tenant le tube par sa partie supérieure, sans toucher l'extrémité, appuyer doucement sur les côtés pour distribuer trois (3) gouttes de l'échantillon extrait dans le puits d'échantillon approprié **BD RSV**. **REMARQUES : ne pas presser le tube à proximité de l'extrémité pour éviter d'éjecter l'embout et provoquer ainsi la fuite du contenu du tube.**
- 
9. Lire les résultats après 15 min ou au bout de 60 min maximum. Il est possible de rapporter les résultats positifs au bout de 5 min sous réserve que la ligne de test et la ligne témoin soient visibles. **REMARQUE : Si un milieu de transport contenant de la gélatine est utilisé, les résultats doivent être lus au bout de 15 min. Voir « Limites de la procédure ».**
 10. Procéder à la lecture dans une zone bien éclairée et noter le résultat du test.
- 

Contrôle de qualité :

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes normatifs concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Se reporter aux normes EP12-A¹⁷ et 42 CFR 493.1202 (c)¹⁸ du CLSI (anciennement NCCLS) pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

Chaque dispositif **BD RSV** comprend des témoins intégrés. Les témoins intégrés sont :

Témoin interne : l'apparition d'une ligne témoin rouge-pourpre constitue un témoin antigène interne (témoin interne positif) qui sert de témoin réactif pour le conjugué et l'anticorps piégé et atteste un débit capillaire suffisant. L'absence de cette ligne indique un test non interprétable.

Témoin de membrane de test (témoin interne négatif) : la surface de la membrane non réactive entourant le témoin interne positif et les lignes de test contrastent avec une réaction positive et servent par conséquent d'arrière-plan de référence pour l'interprétation de la couleur de la réaction.

Témoins positif et négatif externes :

Des témoins liquides positif (témoin +) et négatif (témoin -) sont également inclus dans chaque trousse. Ces témoins sont fournis à titre de moyens de contrôle de qualité supplémentaires permettant de mettre en évidence une réaction positive ou négative. Les témoins externes doivent être testés pour servir de procédure de contrôle de qualité de chaque nouveau lot ou arrivage reçu par le laboratoire. La formation d'une ligne rouge pourpre dans la fenêtre de lecture à côté du « T » pour le témoin + atteste la capacité de fixation de l'antigène de RSV de cette membrane. Ne pas prendre en compte les résultats obtenus pour les isolats cliniques si le témoin + ou le témoin - ne donne pas les résultats escomptés.

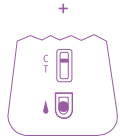
Des témoins liquides peuvent aussi être utilisés pour démontrer une réaction faiblement positive. Pour démontrer une réaction plus faiblement positive, diluer les témoins positif et négatif ensemble dans le même tube **DispensTube** (3 gouttes de témoin + et 3 gouttes de témoin -).

Si les résultats obtenus pour les témoins ne sont pas conformes, ne pas prendre en compte les résultats obtenus pour les isolats cliniques. Contacter le représentant local ou le service technique de BD pour toute assistance complémentaire.

INTERPRETATION DES RESULTATS



Test positif (antigène présent) – Une ligne rouge pourpre visible apparaît dans la fenêtre de lecture à côté du « T » de test et une autre ligne rouge pourpre apparaît à côté du « C » témoin. Ceci indique que l'antigène de RSV était détectable dans l'échantillon. La couleur de l'arrière plan peut aller du blanc au rose clair.



Test négatif (pas d'antigène détecté) – Absence de ligne rouge pourpre visible à côté du « T » de test. Ceci indique que l'antigène de RSV n'était pas détectable dans l'échantillon. Une ligne rouge pourpre à côté du « C » témoin atteste le respect de la procédure du test et la fonctionnalité des réactifs. La couleur de l'arrière plan peut aller du blanc au rose clair.



Test non interprétable – Le test n'est pas interprétable si aucune ligne rouge pourpre n'est visible à côté du « C » témoin ou si la couleur de l'arrière-plan interfère avec la ligne témoin ou l'interprétation du test. Un test non interprétable doit être renouvelé ; prélever et tester un nouvel échantillon ou envoyer l'échantillon au laboratoire d'analyses médicales pour effectuer un isolement à partir d'une culture sur cellules.

non interprétable

RAPPORTER LES RÉSULTATS

Positif Positif pour la présence d'antigène de RSV. Un résultat positif peut être obtenu en l'absence de virus viable.

Négatif Négatif pour la présence d'antigène de RSV. Une infection à RSV ne peut pas être écartée car la concentration de l'antigène dans l'échantillon peut être inférieure à la limite de détection du test. Il est recommandé de confirmer un résultat négatif par mise en culture.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Le test **Directigen** EZ RSV peut détecter des particules RSV viables et non-viables. Les performances du test **Directigen** EZ RSV dépendent de la charge en antigène et peuvent ne pas être corrélatives des résultats obtenus sur culture cellulaire pour le même échantillon. La cause des infections respiratoires dues à des microorganismes autres que le virus respiratoire syncytial ne peut pas être établie avec ce test.
2. Un faux négatif risque d'être obtenu si le prélèvement, la manipulation ou le transport des échantillons a été mal effectué ou si l'excrétion des virus est faible. Il faut donc savoir qu'un résultat négatif n'élimine pas la possibilité d'une infection à RSV. Comme pour toute méthode diagnostique, les résultats obtenus avec le test **Directigen** EZ RSV doivent être interprétés conjointement avec les autres informations cliniques disponibles pour le médecin.
3. Dans un dosage immunologique chromatographique, une ligne faiblement visible est plus susceptible de provoquer un faux positif qu'une ligne fortement visible. Comme pour toute méthode diagnostique, les résultats obtenus avec le test **Directigen** EZ RSV doivent être interprétés conjointement avec les autres informations cliniques disponibles pour le médecin.
4. La validité du test **Directigen** EZ RSV n'a pas été prouvée pour l'identification ou la confirmation d'isolats de cultures cellulaires, aussi le test ne doit pas être utilisé à cette fin.
5. La composition du milieu de transport utilisé doit être soigneusement vérifiée pour savoir s'il contient ou non de la gélatine. Si un milieu de transport contenant de la gélatine est utilisé, les résultats doivent être lus au bout de 15 min. En prolongeant le temps de lecture au-delà de 15 min, on risque de voir apparaître des lignes pâles dans la position (T) de la fenêtre de lecture.
6. Le milieu gel Amies **CultureSwab** Plus n'est pas compatible avec le test **Directigen** EZ RSV. La conservation d'échantillons dans ce milieu risque au fil du temps de provoquer un résultat faussement négatif.
7. La réactivité croisée de ce dosage avec le metapneumovirus humain n'a pas été étudiée.
8. Il est possible que les anticorps monoclonaux ne détectent pas tous les variants ou les nouvelles souches de RSV.
9. Le test **Directigen** EZ RSV n'a pas été évalué sur un nombre suffisant d'échantillons des voies respiratoires inférieures, d'écouvillonnages des voies nasales inférieures, d'écouvillonnages nez/gorge et d'écouvillonnages pharyngiens pour estimer ses performances caractéristiques sur ces types d'échantillon.

VALEURS ATTENDUES

Le taux de résultats positifs constaté pour le dépistage du RSV variera en fonction de la méthode de prélèvement des échantillons, du système de manipulation ou de transport, de la méthode de détection utilisée, de la période de l'année, de l'âge du patient, de la région géographique et, en particulier, de la prévalence locale de la maladie. La prévalence observée en culture sur cellules lors de l'étude clinique variait de 4,2 à 46,5 %.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les performances caractéristiques du test **Directigen** EZ RSV ont été établies dans une étude multicentrique menée dans sept centres d'investigation clinique pendant la saison RSV 2001–2002. Les centres investigateurs se situaient au Canada et dans des régions éloignées géographiquement aux États-Unis.

Tous les échantillons ont été recueillis et transportés jusqu'au laboratoire conformément aux procédures en vigueur dans le laboratoire. Chaque échantillon a été évalué avec le test **Directigen** EZ RSV, en culture sur cellules, ainsi que par la méthode utilisée en routine dans le laboratoire (immunofluorescence directe, dosage immuno-enzymatique). Tous les échantillons non traités ont été stockés à une température inférieure ou égale à -20 °C.

Pour la culture sur cellules, une partie de l'échantillon a été ensemencée sur des lignées cellulaires adaptées à la culture du virus respiratoire, conformément aux procédures en vigueur dans chaque laboratoire. Les signes d'effets cytopathogènes (ECP) éventuels ont été recherchés sur les cellules de la lignée. L'infection par le RSV a été confirmée par marquage immunofluorescent. Un marquage immunofluorescent spécifique de souche a été effectué sur les échantillons négatifs pour les ECP après quatorze jours afin d'obtenir une confirmation négative.

Au total, 1176 échantillons, se composant de lavages, d'aspirations et d'écouvillonnages rhino-pharyngiens, d'écouvillonnages/lavages rhino-pharyngiens et d'échantillons des voies respiratoires inférieures provenant de patients suspectés d'infection à RSV ont été évalués avec le test **Directigen** EZ RSV.

Performances cliniques : sur l'ensemble des échantillons évalués, la sensibilité et la spécificité globales du test **Directigen EZ RSV** pour RSV, comparées à celles de la culture sur cellules, étaient de 80 % et 91 %, respectivement. Le taux global de résultats non interprétables était de 0 %. Les performances caractéristiques du test **Directigen EZ RSV** comparées à celles de la culture sur cellules sont récapitulées dans le tableau 1. Les performances caractéristiques du test comparées à celles de la culture sur cellules et classées par centre investigateur sont récapitulées dans le tableau 2.

Tableau 1 : résumé des performances du test Directigen EZ RSV (EZ) comparées à celles de la culture sur cellules pour l'ensemble des types d'échantillons

Type d'échantillon	n	Culture/EZ				Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)
		+/+	-/+ ^a	+/-	-/-		
Lavage rhino-pharyngien (NPW)	348	129	29	19	171	87,2 (80,7–92,1)	85,5 (79,8–90,1)
Aspiration rhino-pharyngienne (NPA)	401	90	24	27	260	76,9 (68,2–84,2)	91,6 (87,7–94,5)
Écouvillonnage/lavage rhino-pharyngien (NPSW)	160	28	6	11	115	71,8 (55,1–85,0)	95,0 (89,7–98,2)
Écouvillonnage rhino-pharyngien (NPS)	267	20	20	10	217	66,7 (47,2–82,7)	91,6 (87,3–94,8)

(+) = Positif pour RSV (-) = Négatif pour RSV

^a La méthode par PCR utilisée pour tester les échantillons négatifs en culture et positifs par le test **Directigen EZ RSV** n'est pas une méthode agréée par la FDA.

79 échantillons étaient négatifs en culture et positifs avec le test **Directigen EZ RSV**. Le test par PCR a été effectué sur 73 des 79 échantillons ; au total, 46 des 73 échantillons étaient positifs par PCR.

Tableau 2 : résumé des performances du test Directigen EZ RSV (EZ) comparées à celles de la culture sur cellules, par centre investigateur

Centre investigateur	Type d'échantillon	n	Culture/EZ				Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)
			+/+	-/+	+/-	-/-		
Centre 1	50 % NPW 45 % NPA 5 % NPS	38	11	2	0	25	100 (71,5–100)	92,6 (83,8–99,4)
Centre 2	100 % NPW	173	56	18	15	84	78,9 (67,6–87,7)	82,4 (73,6–89,2)
Centre 3	59 % NPA 37 % NPW 4 % NPS	195	79	24	13	79	85,9 (77,1–92,3)	76,7 (67,3–84,5)
Centre 4	100 % NPS	207	4	17	5	181	44,4 (13,7–78,8)	91,4 (86,6–94,9)
Centre 5	73 % NPSW 24 % NPS 2 % NPW 1 % NPA	219	46	8	15	150	75,4 (62,7–85,5)	94,9 (90,3–97,8)
Centre 6	100 % NPW	77	31	0	3	43	91,2 (76,3–98,1)	100 (91,8–100)
Centre 7	100 % NPA	267	40	10	16	201	71,4 (57,8–82,7)	95,3 (91,5–97,7)

(+) = Positif pour RSV (-) = Négatif pour RSV

Les résultats des tests **Directigen EZ RSV** positifs étaient distribués sur une plage allant des lignes faiblement visibles aux lignes fortement visibles. Parmi les 70 échantillons positifs avec le test **Directigen EZ RSV** présentant des lignes faiblement visibles, 39 étaient positifs en culture et 58 au

total étaient positifs par une ou plusieurs méthodes (culture sur cellules, immunofluorescence directe, dosage immuno-enzymatique ou PCR^a). Parmi les 170 échantillons positifs avec le test **Directigen** EZ RSV présentant des lignes visibles, 130 étaient positifs en culture et 166 au total étaient positifs par une ou plusieurs méthodes (culture sur cellules, immunofluorescence directe, dosage immuno-enzymatique ou PCR^a). Parmi les 106 échantillons positifs avec le test **Directigen** EZ RSV présentant des lignes fortement visibles, 98 étaient positifs en culture et 106 au total étaient positifs par une ou plusieurs méthodes (culture sur cellules, immunofluorescence directe, dosage immuno-enzymatique ou PCR^a).

^a La méthode par PCR utilisée pour tester les échantillons négatifs en culture et positifs par le test **Directigen** EZ RSV n'est pas une méthode agréée par la FDA.

Reproductibilité : la reproductibilité du test **Directigen** EZ RSV a été évaluée dans trois centres investigateurs. Le groupe de reproductibilité se composait de 12 échantillons témoins positifs pour RSV, parmi lesquels quatre exemplaires d'un échantillon faiblement positif (taux proche de la limite de détection ou LDD) et quatre exemplaires d'un échantillon positif contenant un taux moyen d'antigène de RSV ensemencé dans le diluant témoin négatif. Le groupe comportait également quatre échantillons négatifs pour RSV constitués de diluant témoin négatif non ensemencé. Le reproductibilité globale du test **Directigen** EZ RSV était de 99,1 %.

Études analytiques

Sensibilité analytique (limite de détection)

La limite de détection (LDD) du test **Directigen** EZ RSV a été établie sur un total de cinq souches de RSV ; deux souches RSV A et trois souches RSV B.

Type	Souche virale RSV	LDD (DICT ₅₀)*
A	RSV (Long)	3,95 x 10 ³
A	RSV (A-2)	7,9 x 10 ³
B	RSV (9320)	4,05 x 10 ²
B	RSV (Washington)	7,03 x 10 ³
B	RSV (type sauvage)	5,56 x 10 ²

* DICT₅₀ = Dose infectieuse sur culture tissulaire à laquelle 50 % des cellules sont lysées.

Spécificité analytique

Le test **Directigen** EZ RSV a été évalué sur 99 microorganismes au total (58 bactéries, deux levures et 39 virus). Les bactéries et les levures ont été testées à une concentration de 10⁸ CFU/mL. *Mycoplasma orale* a été testé à une concentration supérieure à 10⁷ CFU/mL. *Mycoplasma pneumoniae* a été testé à une concentration supérieure à 10⁶ CCU/mL (CCU – unités de changement de couleur). *Mycobacterium tuberculosis* a été testé à la concentration de 7,0 x 10⁶ CFU/mL. Les titres des isolats viraux testés s'échelonnaient de 10^{3,5} à 10^{9,5} DICT₅₀/0,20 mL. Les titres de H. influenza testés s'échelonnaient de 10^{3,5} à 10^{9,5} DEIP₅₀**/0,20 mL. Aucun des microorganismes répertoriés n'a produit de résultat positif avec le test **Directigen** EZ RSV.

** DEIP₅₀ = Dose infectieuse sur embryon de poulet à laquelle 50 % des embryons sont infectés.

Groupe des bactéries et levures

<i>Acinetobacter baumannii</i> (<i>calcoaceticus</i>)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp <i>minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus aureus-Cowan</i>
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II du groupe D
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> du groupe A
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus sp.</i> du groupe B
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	<i>Streptococcus sp.</i> du groupe C
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus sp.</i> du groupe F
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus sp.</i> du groupe G
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Prevotella oralis</i>	
<i>Kingella kingae</i>		

Groupe des virus

Adenovirus de type 3	Influenza B/GL/1739/54
Adenovirus de type 5	Influenza B/Hong Kong/5/72
Adenovirus de type 7	Influenza B/Lee/40
Adenovirus de type 10	Influenza B/Allen/45
Adenovirus de type 18	Influenza B/Maryland/1/59
Coronavirus	Influenza B/Taiwan/2/62
Coxsackievirus de type A9 (Griggs)	Influenza C/Taylor/1233/47
Coxsackievirus de type A9 (P.B. Bozek)	Virus de la rougeole
Coxsackievirus de type B5	Virus des oreillons
Coxsackievirus de type B6	Parainfluenza de type 1
Coxsackievirus de type A21	Parainfluenza de type 2
Cytomégalo virus	Parainfluenza de type 3
Échovirus de type 2	Rhinovirus de type 1A
Échovirus de type 3	Rhinovirus de type 2
Échovirus de type 6	Rhinovirus de type 13
Échovirus de type 11	Rhinovirus de type 15
Virus de l'herpès simplex de type 1	Rhinovirus de type 16
Virus de l'herpès simplex de type 2	Rhinovirus de type 37
Influenza A (H1N1)	Virus zona-varicelle
Influenza A (H3N2)	

Substances interférentes

Plusieurs substances ont été testées avec le test **Directigen EZ RSV**, parmi lesquelles du sang total à 2 % et des médicaments avec ou sans ordonnance. Aucune interférence n'a été notée pour ces substances aux concentrations testées.

Médicaments sans ordonnance

Trois bains de bouche à 25 %	Chlorhydrate de diphényhydramine à 5 mg/mL
Trois produits de gouttes pour la gorge à 25 %	Chlorhydrate de pseudoéphédrine à 20 mg/mL
Trois pulvérisations nasales à 10 %	Éther glycérique du gaiacol à 20 mg/mL
4-acétamidophénol à 10 mg/mL	Ibuprofène à 10 mg/mL
Acide acétylsalicylique à 20 mg/mL	Oxymétazoline à 0,05 mg/mL
Maléate de chlorphéniramine à 5 mg/mL	Phényléphrine à 1 mg/mL
Dextrométhorphan à 10 mg/mL	

Médicaments sur ordonnance

Zanamavir à 1 mg/mL	Ribavirine à 500 ng/mL
Amantadine à 500 ng/mL	Synagis à 0,1 mg/mL
Rimantadine à 500 ng/mL	Sulfate d'albutérol à 0,083 mg/mL

CONDITIONNEMENT

Réf.	Description
256030	Trousse de 30 tests Directigen EZ RSV
220115	BBL CultureSwab Sterile Single Swab (écouvillon individuel stérile), boîte de 100
220131	BBL CultureSwab Liquid Amies , fil souple en aluminium, boîte de 50
220134	BBL CultureSwab Liquid Stuart , fil souple en aluminium, boîte de 50
220220	BD Universal Viral Transport , flacon de 3 mL, carton de 50
220250	Regular Flocked Swab, écouvillon stérile emballé individuellement, boîte de 100
220251	Minitip Flocked Swab, écouvillon stérile emballé individuellement, boîte de 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, écouvillon stérile emballé individuellement, boîte de 100

REFERENCES

Voir la section « References » dans la notice en anglais.

BD Directigen EZ RSV Für den direkten Nachweis von **Respiratory-Syncytial-Virus (RS-Virus)**

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Der **Directigen EZ RSV-Test** ist ein schneller chromatographischer Immunoassay für den direkten qualitativen Nachweis von Antigenen gegen Respiratory-Syncytial-Virus (RS-Virus) in Nasopharyngeal-Spülungen, Nasopharyngeal-Aspiraten, Nasopharyngeal-Abstrichen und Nasopharyngeal-Abstrichen/Spülungen von Patienten mit vermuteten viralen Atemwegsinfektionen. Dieser Test ist als *In-vitro*-Diagnostikum zur Unterstützung der Diagnose von Infektionen mit dem Respiratory-Syncytial-Virus (RSV) bei Neugeborenen, Kindern und Jugendlichen bis zum Alter von 20 Jahren vorgesehen. Es wird empfohlen, negative Testergebnisse durch Zellkultivierung zu bestätigen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Virale Atemwegsinfektionen sind für zahlreiche Erkrankungen verantwortlich. Das RS-Virus ist die Hauptursache für Infektionen der unteren Atemwege bei kleinen Kindern in der Erkältungssaison.¹ Das RS-Virus wurde auch als Ursache schwerer Atemwegsinfektionen bei älteren und Immunschwäche-Patienten genannt.^{2,3} Unlängst wurde das RS-Virus als Ursache für 20 % aller „grippalen“ Erkrankungen der Altersgruppe von 15 bis 44 Jahren identifiziert.⁴

Zu den herkömmlichen Nachweismethoden für Atemwegsviren zählen Zellkulturen und Direkt-Fluoreszenz-Antikörper-Tests (DFA).⁵⁻⁷ Unlängst haben sich PCR-Tests als klinisch nützlich für den Nachweis von Atemwegsviren, darunter auch das RS-Virus, erwiesen.⁸ Enzym-Immunoassays (EIA) und manuelle Schnelltestsysteme stehen für spezifische Viren, wie bspw. Influenza A/B und RS-Virus, zur Verfügung. Schnelltests ermöglichen eine rasche Diagnose, so daß die betreffenden Patienten entsprechend isoliert und behandelt werden können, um die nosokomiale Übertragung von Infektionen an Mitpatienten mit Herz-, Atem- oder Immunschwächen zu verhüten.⁹ Außerdem unterstützen Schnelltests die Wahl der geeigneten Virusbekämpfungstherapie.

Zu den am häufigsten entnommenen Proben für RS-Virus-Tests zählen Nasopharyngeal-Spülungen, Nasopharyngeal-Aspirate und Nasopharyngeal-Abstriche. Nasopharyngeal-Spülungen und -Aspirate haben sich im Vergleich zu Abstrichen als geeigneter erwiesen und stellen das bevorzugte Probenmaterial dar.¹⁰

Der **Directigen EZ RSV-Test** zum Antigennachweis ist ein chromatographischer Assay zum Nachweis von Antigenen gegen das RS-Virus aus verschiedenen Proben symptomatischer Patienten. Seine Schnelligkeit und sein Ablauf machen den **Directigen EZ RSV-Test** als „STAT“-Eiltest für den Nachweis von RS-Virus-Antigenen geeignet, da relevante unterstützende Informationen für die antivirale Behandlung und sonstige klinische Entscheidungen rasch zur Hand sind.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Der **Directigen EZ RSV-Test** ist ein chromatographischer Assay für den qualitativen Nachweis von RS-Virus-Antigenen in Atemwegsproben. Bei der Abgabe der extrahierten Proben in die Testvorrichtung werden RS-Virus-A- und/oder -B-Antigene an das kolloide Antikörper-Gold-Konjugat des Teststreifens gebunden, wobei ein Antigen-Antikörper-Komplex entsteht. Dieser Komplex migriert auf dem Teststreifen zum Reaktionsbereich und wird auf der Membran von der Linie aus RS-Virus-Antikörper erfaßt. Überschüssiges Konjugat wird an eine zweite Linie aus deaktiviertem RS-Virus-Antigen gebunden, welche als Funktionskontrolle dient. Ein positives Ergebnis wird durch die Ausbildung zweier rot-violetter Linien im Ergebnisfenster angezeigt, und zwar einer Linie neben dem „T“ (Test) und einer neben dem „C“ (Kontrolle). Das Fehlen einer rot-violetten Linie neben dem „T“ bei Vorliegen einer rot-violetten Linie neben dem „C“ bedeutet ein negatives Ergebnis. Der Test gilt als nicht interpretierbar, wenn neben dem „C“ keine rot-violette Linie sichtbar ist.

REAGENZIEN

Der **Directigen EZ RSV-Kit** umfasst die folgenden Komponenten:

BD RSV-Vorrichtungen	30	Jede Vorrichtung umfasst eine Kontroll-Linie aus deaktiviertem RS-Virus-Antigen und eine Testlinie aus monoklonalem RS-Virus-Antikörper auf der Membran.
Extraktionsreagenz E	4,0 mL	Extraktion, Mukolyse-Wirkstoff und Reinigungsmittel, mit 0,2 % Natriumazid (als Konservierungsmittel).
Kontrolle +	2,0 mL	Positive Kontrolle, mit Reinigungsmittel behandelte und mit RS-Virus infizierte Zellen mit 0,1 % Natriumazid (als Konservierungsmittel).
Kontrolle –	4,0 mL	Negative Kontrolle, mit Reinigungsmittel behandelte, nicht infizierte Zellen mit 0,1 % Natriumazid (als Konservierungsmittel).
DispensTube-Röhrchen	30	Röhrchen für die Probenextraktion und die Abgabe der Probe in die Vorrichtung.
DispensTube-Spitzen	30	Spitzen zum Filtrieren der Probe bei der Abgabe in die Vorrichtung.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Pipette (mit Abgabekapazität von 250 µL), Zeitgeber, Vortexmischer und Transportmedien (siehe „Probengewinnung und -handhabung“).

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

1. Das Reagenz RSV-Kontrolle + und die Kontroll-Linie der **BD RSV-Vorrichtung** wurden aus mit RS-Virus infizierten, durch Reinigungsmittel- und Schallbehandlung deaktivierten und anschließend mit biologischen Testverfahren geprüften Gewebezellkulturen hergestellt.
2. Den Kit nicht verwenden, wenn die positiven und negativen Kontrollen (Kontrolle + bzw. Kontrolle –) nicht die korrekten Resultate erbringen.
3. Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“¹¹⁻¹⁴ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.
4. Die Kitkomponenten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
5. Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern **NICHT** kombinieren. Die Vorrichtung nicht wiederverwenden.
6. Die Reagenzien enthalten Natriumazid, das bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken gesundheitsschädlich ist. Bei Kontakt mit Säuren entstehen hochgiftige Gase. Bei Hautkontakt sofort mit reichlich Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen zu vermeiden.

Lagerung und Handhabung: Die Kits können bei 2–30 °C aufbewahrt werden. **NICHT EINFRIEREN.** Die Reagenzien und **BD RSV-Vorrichtungen** müssen zur Testdurchführung Zimmertemperatur aufweisen (15–30 °C).

PROBENGEWINNUNG UND PRÄPARATION

Transport und Aufbewahrung von Proben: Frische Proben schnellstmöglich in einem geeigneten Flüssigkeitstransportsystem an das Labor senden. Die Proben so bald wie möglich nach der Entnahme aufbereiten. Erforderlichenfalls können die Proben nach der Entnahme bei 2–8 °C bis zu 72 h bzw. bei –20 °C bis zu sieben Tage lang aufbewahrt werden.

Die Einhaltung der korrekten Entnahme- und Vorbereitungsverfahren für die Proben ist unerlässlich. Die Proben vor der Durchführung des **Directigen EZ RSV-Tests** nicht zentrifugieren, da die Entfernung von Zellbestandteilen die Testempfindlichkeit beeinträchtigt.

Transportmedien: Die folgenden Transportmedien wurden geprüft und als geeignet für den **Directigen EZ RSV-Test** befunden:

Physiologische Kochsalzlösung
Kochsalzlösung mit Phosphatpuffer
Kochsalzlösung mit Phosphatpuffer
+ 0,5 % Gelatine*
Kochsalzlösung mit Phosphatpuffer
+ 0,5 % Rinderserumalbumin
Nährbouillon-Infus aus Kalb (VIB)
VIB + 0,5 % Rinderserumalbumin
Hanks ausgeglichene Salzlösung
M4-Medium*
M4-RT-Medium*
M5-Medium
Bartels ViraTrans-Medium
Saccharose-Phosphat (2-SP)

Trypticase-Sojabouillon + 0,5 % Gelatine*
Trypticase-Sojabouillon + 0,5 % Rinderserumalbumin
Earle's Minimal Essential Medium (EMEM)
EMEM + 0,5 % Rinderserumalbumin
EMEM + 1 % Rinderserumalbumin
EMEM + 0,5 % Lactalbumin-Hydrolysat
EMEM + 1,0 % Lactalbumin-Hydrolysat
CultureSwab (modifiziertes Stuart-Medium, flüssig)
CultureSwab (Amies, flüssig)
Starplex Multitrans*
BD virales Universal-Transport-Medium*

*Medium enthält Gelatine.

Probengewinnung und Präparation: Nasopharyngeal-Spülungen und -Aspirate haben sich im Vergleich zu Nasopharyngeal-Abstrichen als geeigneter erwiesen und stellen das bevorzugte Probenmaterial dar.^{9,10} Zu den geeigneten Proben für den **Directigen EZ RSV-Test** zählen Nasopharyngeal-Spülungen, Nasopharyngeal-Aspirate, Nasopharyngeal-Abstriche und Nasopharyngeal-Abstriche/Spülungen.

HINWEIS: Für Nasopharyngeal-Abstriche werden Tupfer mit Polyester- oder Rayon-Spitze und Aluminiumdraht empfohlen. Beflockte Tupfer wurden in analytischen Studien geprüft und erwiesen sich als kompatibel mit dem **Directigen EZ RSV-Test**.¹⁵ Abstrichtupfer mit Kalziumalginat Spitze sind für die Virusproben-Entnahme nicht akzeptabel.¹⁶

Verfahren für Nasopharyngeal-Spülungen, Nasopharyngeal-Abstriche/Spülungen:

1. Als Probenvolumen werden 2–3 mL empfohlen.
2. Übermäßig große Spül- oder Lavage-Volumina sind zu vermeiden, da sie die Testempfindlichkeit beeinträchtigen können.
3. Die Proben aufbereiten, wie unter „Testverfahren“ beschrieben.

Verfahren für Nasopharyngeal-Abstriche:

1. Abstrichproben können in 350 µL–2 mL Transportmedium gegeben werden.
2. Abstrichtupfer und Transportmedien im Vortexmischer mischen.
3. Soviel Flüssigkeit wie möglich aus dem Tupfer entfernen.
HINWEIS: Der Abstrichtupfer kann auch im Röhrchen verbleiben.
4. Den Tupfer in einem geeigneten Behälter entsorgen.
5. Die Proben aufbereiten, wie unter „Testverfahren“ beschrieben.

Verfahren für Nasopharyngeal-Aspirate:

1. Die Proben können vor der Aufbereitung in 1–3 mL Transportmedium oder Kochsalzlösung dispergiert werden.
2. Die Proben aufbereiten, wie unter „Testverfahren“ beschrieben.

VERFAHREN

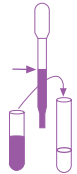
Testverfahren

HINWEISE:

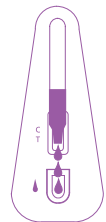
- Die Reagenzien, Proben und **BD** RSV-Vorrichtungen müssen zur Testdurchführung Zimmertemperatur aufweisen (15–30 °C).
 - Alle Proben vor der Entnahme einer Teilmenge für die Extraktion gut durchmischen. Die Proben vor der Durchführung des **Directigen EZ** RSV-Tests nicht zentrifugieren, da die Entfernung von Zellbestandteilen die Testempfindlichkeit beeinträchtigt.
 - Für die einwandfreie Abgabe sind die **DispensTube**-Röhrchen und Reagenzfläschchen senkrecht zu halten (in ca. 2,5 cm Abstand zum Testfeld der **BD** RSV-Vorrichtung bzw. zum **DispensTube**-Röhrchen) und die Tropfen behutsam einzeln und rasch hintereinander abzugeben.
1. Unmittelbar vor Gebrauch eine **BD** RSV-Vorrichtung aus ihrer Folienpackung entnehmen.
 2. Eine **BD** RSV-Vorrichtung und ein **DispensTube**-Röhrchen mit der Bezeichnung der zu testenden Kontrolle oder Probe kennzeichnen.
 3. Das so gekennzeichnete **DispensTube**-Röhrchen im vorgesehenen Bereich der Arbeitsstation oder des Ständers platzieren.
 4. Das Extraktionsreagenz E durch behutsames Umdrehen mischen. Drei Tropfen in das **DispensTube**-Röhrchen geben. Reagenzfläschchen senkrecht halten (in ca. 2,5 cm Abstand zum **DispensTube**-Röhrchen), und die Tropfen abgeben.



5. Die Probe oder Kontrolle gut durchmischen und wie im Folgenden beschrieben verarbeiten:
 - a. Für Proben:
 1. Probe im Vortexmischer oder auf sonstige Weise gut durchmischen. Nicht zentrifugieren.
 2. 250 µL der Probe in das **DispensTube**-Röhrchen pipettieren.



- b. Für Kontrollen:
 1. Die Röhrchen mit Kontrolle + und Kontrolle – behutsam mischen.
 2. 6 Tropfen Kontrolle + in das entsprechende **DispensTube**-Röhrchen geben.
 3. 6 Tropfen Kontrolle – in das entsprechende **DispensTube**-Röhrchen geben.
 6. Auf jedem **DispensTube**-Röhrchen eine **DispensTube**-Spitze anbringen.
HINWEIS: Keine Spitzen anderer Directigen-Produkte verwenden.
 7. Im Vortexmischer oder auf sonstige Weise gut durchmischen.
 8. Das **DispensTube**-Röhrchen umdrehen und in der oberen Hälfte fassen (nicht im Spitzenbereich) und behutsam drei (3) Tropfen der extrahierten Probe in das entsprechend gekennzeichnete **BD** RSV-Testfeld auspressen.
HINWEIS: Wird das Röhrchen im Spitzenbereich zusammengepreßt, kann dies zum Ausstoßen der Spitze und zum Auslaufen des Röhrcheninhalts führen.
9. Das Ergebnis nach 15 Min, oder bis zu 60 Min, ablesen. Positive Ergebnisse können bereits nach 5 Min protokolliert werden, wenn Test- und Kontrolllinie sichtbar sind.



- HINWEIS:** Bei Verwendung eines Gelatinehaltigen Transportmediums müssen die Ergebnisse nach 15 min abgelesen werden. Siehe „Verfahrensbeschränkungen“.
10. Das Testergebnis in einem gut beleuchteten Bereich ablesen und verzeichnen.

Qualitätskontrolle:

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Es wird empfohlen, daß der Benutzer die Dokumente CLSI (ehemals NCCLS) EP12-A¹⁷ und 42 CFR 493.1202 (c)¹⁸ bezüglich Anleitung über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einseht.

Jede **BD** RSV-Vorrichtung enthält eingebaute Kontrollen:

Interne Kontrolle: Die Ausbildung einer rot-violetten Kontrolllinie stellt eine interne Antigenkontrolle (positive interne Kontrolle) dar und dient zur Reagenzüberprüfung für Konjugat- und Einfang-Antikörper sowie zum Nachweis eines ausreichenden Kapillarflusses. Wenn diese Linie nicht vorhanden ist, kann der Test nicht interpretiert werden.

Testmembran-Kontrolle (negative interne Kontrolle): Die nicht reagierende Membran um die positive interne Kontrolle und die Testlinien kontrastieren mit der eventuellen positiven Reaktion und eignen sich daher als Hintergrundreferenz für die Interpretation der Reaktionsfarbe.

Externe positive und negative Kontrollen:

Außerdem enthält jeder Kit eine positive (Kontrolle +) und eine negative (Kontrolle -) Flüssigkontrolle. Diese Kontrollen werden als zusätzliches QK-Material bereitgestellt, mit dem eine positive bzw. eine negative Reaktion demonstriert werden kann. Die Flüssigkontrollen sollten für jede neue Charge oder eingegangene Lieferung als QK-Verfahren analysiert werden. Die Ausbildung einer rot-violetten Linie im Ergebnissenster neben dem „T“ bei Anwendung von Kontrolle + bestätigt außerdem die einwandfreie RS-Virus-Antigen-Bindungsfähigkeit der Membran. Ergebnisse verwerfen, wenn die positive oder negative Kontrolle (Kontrolle + bzw. Kontrolle -) nicht das erwartete Ergebnis erbringt.

Die Flüssigkontrollen können auch zum Demonstrieren einer schwach positiven Reaktion herangezogen werden. Eine schwächere positive Reaktion läßt sich durch Verdünnen von Kontrolle + mit Kontrolle - im selben **DispensTube**-Röhrchen demonstrieren (3 Tropfen Kontrolle + und 3 Tropfen Kontrolle -).

Falls die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, sind die Patientenergebnisse zu verwerfen. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an den zuständigen Kundendienst von BD.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE



Positiver Test (Vorliegen von Antigen) – Im Ergebnissenster bildet sich neben dem „T“ (Test) eine sichtbare rot-violette Linie aus sowie auch eine rot-violette Linie neben dem „C“ (Kontrolle). Dies bedeutet, daß in der Probe RS-Virus-Antigen nachweisbar war. Der Hintergrundbereich sollte weiß bis hellrosa sein.

+



Negativer Test (kein Antigennachweis) – Neben dem „T“ (Test) ist keine rot-violette Linie sichtbar. Dies bedeutet, daß in der Probe kein RS-Virus-Antigen nachweisbar war. Eine rot-violette Linie neben dem „C“ (Kontrolle) bedeutet eine korrekte Testdurchführung und Reagenzienleistung. Der Hintergrundbereich sollte weiß bis hellrosa sein.

-



Nicht interpretierbarer Test – Der Test ist nicht interpretierbar, wenn neben dem „C“ (Kontrolle) keine rot-violette Linie sichtbar ist oder wenn die Hintergrundfarbe die Interpretation der Test- oder der Kontrolllinie verhindert. Ein nicht interpretierbarer Test ist zu wiederholen: Es muß eine neue Probe entnommen und ein neuer Test durchgeführt werden, oder die Probe wird zur Kultivierung an ein klinisches Labor eingeschendet.

nicht interpretier

BERICHTERGEBNISSE

Positiv Positiv für das Vorliegen von RS-Virus-Antigen. Ein positives Ergebnis kann auftreten, selbst wenn keine lebensfähigen Viren vorhanden sind.

Negativ Negativ für das Vorliegen von RS-Virus-Antigen. Das Vorliegen einer Infektion mit RSV kann nicht ausgeschlossen werden, da in der Probe Antigen in einer Menge unterhalb der Nachweisgrenze vorhanden sein könnte. Es wird empfohlen, negative Proben durch Kultivierung zu bestätigen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Der **Directigen** EZ RSV-Test kann sowohl lebensfähige als auch nicht lebensfähige RS-Virus-Partikel nachweisen. Die **Directigen** EZ RSV-Testleistung ist abhängig von der vorhandenen Antigenmenge und entspricht evtl. nicht der Gewebekultur derselben Probe. Die Ätiologie eines durch andere Mikroorganismen (außer RS-Virus) verursachten Atemwegsinfekts läßt sich mit diesem Test nicht ermitteln.
2. Unzulängliche Probengewinnung, inkorrekte(r) Probenhandhabung/-transport oder geringe Virus-Abscheidung können zu einem falsch-negativen Ergebnis führen. Daher schließt ein negatives Testergebnis das Vorliegen einer möglichen RS-Virus-Infektion nicht aus. Wie bei allen Diagnostikverfahren sollten auch beim **Directigen** EZ RSV-Test die Ergebnisse in Verbindung mit anderen, dem Arzt vorliegenden, klinischen Daten ausgewertet werden.
3. Bei chromatographischen Immunoassays ist die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses bei schwach sichtbaren Linien größer als bei gut sichtbaren Linien. Wie bei allen Diagnostikverfahren sollten auch beim **Directigen** EZ RSV-Test die Ergebnisse in Verbindung mit anderen, dem Arzt vorliegenden, klinischen Daten ausgewertet werden.
4. Die Eignung des **Directigen** EZ RSV-Tests für die Identifizierung/Bestätigung von Gewebekultur-Isolaten ist nicht erwiesen, und der Test sollte nicht für diesen Zweck eingesetzt werden.
5. Die Inhaltsstoffe des verwendeten Transportmediums sorgfältig dahingehend prüfen, ob es Gelatine enthält oder nicht. Bei Verwendung eines Gelatinehaltigen Transportmediums müssen die Ergebnisse nach 15 min abgelesen werden. Bei Ablesung später als 15 min können im Ergebnisfenster schwache Linien in der Testposition (T) erscheinen.
6. **CultureSwab** Plus-Medien mit Amies-Gel sind mit dem **Directigen** EZ RSV-Test nicht kompatibel. Die Aufbewahrung von Proben in einem derartigen Medium kann im Verlauf der Zeit zu einem falsch-negativen Ergebnis führen.
7. Kreuzreaktionen dieses Assays mit dem humanen Metapneumovirus wurden nicht untersucht.
8. Monoklonale Antikörper erkennen unter Umständen nicht alle Antigen-Varianten oder neuen Stämme von RSV.
9. Der **Directigen** EZ RSV-Test wurde nicht mit einer ausreichenden Anzahl von Proben aus dem Bereich der unteren Atemwege, Abstrichen der unteren Nasenmuschel, Nasen-Rachen-Abstrichen oder Pharynx-Abstrichen untersucht, als daß man daraus Rückschlüsse auf die Leistungsmerkmale des Tests in Zusammenhang mit diesen Probenarten ziehen könnte.

ERWARTETE WERTE

Die Anzahl der positiven RS-Virus-Testergebnisse ist abhängig von der Probenentnahmemethode, dem verwendeten Handhabungs-/Transportsystem, der angewandten Nachweismethode, der Jahreszeit, dem Patientenalter, der geografischen Region und vor allem dem lokalen Krankheitsvorkommen. Die im Rahmen der klinischen Studie bei Kulturen beobachtete Häufigkeit lag zwischen 4,2 und 46,5 %.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsmerkmale des **Directigen** EZ RSV-Tests wurden im Rahmen einer in der RS-Virus-Saison 2001/2002 an mehreren Standorten (d.h. sieben klinischen Zentren) durchgeführten Studie ermittelt. Diese klinischen Zentren befanden sich in Kanada und verschiedenen geografischen Regionen der USA.

Alle Proben wurden gemäß des jeweiligen laboreigenen Verfahrens entnommen und in das Labor überführt. Alle Proben wurden anhand des **Directigen** EZ RSV-Tests und per Zellkultivierung sowie nach der Routinemethode des Labors (DFA, EIA) beurteilt. Alle sonstigen Proben wurden bei -20 °C oder tieferen Temperaturen eingelagert.

Für die Zellkultivierung wurden gemäß des jeweiligen laboreigenen Verfahrens mit einem Teil der Probe geeignete Zellreihen für Atemwegsviruskulturen inokuliert. Die Zellen wurden im Hinblick auf die Ausbildung einer zytopathischen Wirkung untersucht. Das Vorliegen von RS-Virus in infizierten Zellen wurde mittels Immunfluoreszenz-Markern bestätigt. Proben, die nach vierzehn Tagen keine zytopathische Wirkung zeigten, wurden mittels artenspezifischer Immunfluoreszenz-Markierung als negativ bestätigt.

Insgesamt wurden mit dem **Directigen** EZ RSV-Test 1176 Proben getestet, und zwar Nasopharyngeal-Spülungen, Nasopharyngeal-Aspirate, Nasopharyngeal-Abstriche und Nasopharyngeal-Abstriche/Spülungen von Patienten mit vermuteten RS-Virus-Infektionen.

Klinische Leistung: Für alle beurteilten Proben betrug die insgesamt Empfindlichkeit und Spezifität des **Directigen** EZ RSV-Tests für RS-Virus im Vergleich zur Kultur 80 % bzw. 91 %. Der

Anteil der nicht interpretierbaren Proben war 0 %. Die Leistungsmerkmale des **Directigen EZ RSV-Tests** im Vergleich zur Zellkultur für die einzelnen Probenarten sind aus Tabelle 1 ersichtlich. Die Leistungsmerkmale im Vergleich zur Zellkultur für die einzelnen klinischen Zentren sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ RSV-Tests (EZ) im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für alle Probenarten

Probenart	n	Kultur/EZ				Empfindlichkeit (%) (95 % VI)	Spezifität (%) (95 % VI)
		+/+	-/+ ^a	+/-	-/-		
Nasopharyngeal-Spülung (NPS)	348	129	29	19	171	87,2 (80,7–92,1)	85,5 (79,8–90,1)
Nasopharyngeal Aspirat (NPA)	401	90	24	27	260	76,9 (68,2–84,2)	91,6 (87,7–94,5)
Nasopharyngeal Abstrich/Spülung (NPABs)	160	28	6	11	115	71,8 (55,1–85,0)	95,0 (89,7–98,2)
Nasopharyngeal Abstrich (NPAb)	267	20	20	10	217	66,7 (47,2–82,7)	91,6 (87,3–94,8)

(+) = positiv für RS-Virus (-) = negativ für RS-Virus

^a Das zum Testen der beim Kultivieren negativen, beim **Directigen EZ RSV-Test** jedoch positiven Proben verwendete PCR ist kein von der FDA anerkanntes Verfahren.

Es gab 79 Proben, die sich bei Kultivierung als negativ und mit dem **Directigen EZ RSV-Test** als positiv erwiesen. Für 73 der 79 Proben wurden PCR-Tests durchgeführt. Insgesamt erwiesen sich 46 der 73 Proben mit dem PCR-Test als positiv.

Tabelle 2: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ RSV-Tests (EZ) im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für alle klinischen Zentren

Standort	Probenart	n	Kultur/EZ				Empfindlichkeit (%) (95 % VI)	Spezifität (%) (95 % VI)
			+/+	-/+	+/-	-/-		
Standort 1	50 % NPS 45 % NPA 5 % NPAb	38	11	2	0	25	100 (71,5–100)	92,6 (83,8–99,4)
Standort 2	100 % NPS	173	56	18	15	84	78,9 (67,6–87,7)	82,4 (73,6–89,2)
Standort 3	59 % NPA 37 % NPS 4 % NPAB	195	79	24	13	79	85,9 (77,1–92,3)	76,7 (67,3–84,5)
Standort 4	100 % NPAB	207	4	17	5	181	44,4 (13,7–78,8)	91,4 (86,6–94,9)
Standort 5	73 % NPABs 24 % NPAb 2 % NPS 1 % NPA	219	46	8	15	150	75,4 (62,7–85,5)	94,9 (90,3–97,8)
Standort 6	100 % NPS	77	31	0	3	43	91,2 (76,3–98,1)	100 (91,8–100)
Standort 7	100 % NPA	267	40	10	16	201	71,4 (57,8–82,7)	95,3 (91,5–97,7)

(+) = positiv für RS-Virus (-) = negativ für RS-Virus

Die positiven Ergebnisse beim **Directigen EZ RSV-Test** waren über einen Bereich verteilt, der von schwach sichtbaren bis zu gut sichtbaren Linien reichte. Von den 70 positiven **Directigen EZ RSV-Tests** mit schwach sichtbaren Linien waren 39 bei der Kultivierung und insgesamt 58 nach einem oder mehreren Verfahren (Kultivierung, DFA, EIA, oder PCR^a) ebenfalls positiv. Von den 170 positiven **Directigen EZ RSV-Tests** mit sichtbaren Linien waren 130 bei der

Kultivierung und insgesamt 166 nach einem oder mehreren Verfahren (Kultivierung, DFA, EIA, oder PCR^a) ebenfalls positiv. Von den 106 positiven **Directigen** EZ RSV-Tests mit gut sichtbaren Linien waren 98 bei der Kultivierung und insgesamt 106 nach einem oder mehreren Verfahren (Kultivierung, DFA, EIA, oder PCR^a) ebenfalls positiv.

^a Das zum Testen der beim Kultivieren negativen, beim **Directigen** EZ RSV-Test jedoch positiven Proben verwendete PCR ist kein von der FDA anerkanntes Verfahren.

Reproduzierbarkeit: Die Reproduzierbarkeit des **Directigen** EZ RSV-Tests wurde an drei Standorten überprüft. Das Reproduzierbarkeitsprofil bestand aus 12 simulierten RS-Virus-Proben und umfaßte vier Replikate einer schwach positiven Konzentration (nahe der Nachweisgrenze) und vier Replikate einer mäßig positiven Konzentration an RS-Virus-Antigen, die dem negativen Kontrollverdünnungsmittel zugesetzt wurde. Außerdem umfaßte das Profil vier Proben mit simulierter RS-Virus-Negativität, bei denen es sich um das zusatzfreie Kontrollverdünnungsmittel handelte. Die insgesamte Reproduzierbarkeit des **Directigen** EZ RSV-Tests betrug 99,1 %.

Analytische Studien

Testempfindlichkeit (Nachweisgrenze)

Die Nachweisgrenze (LOD) des **Directigen** EZ RSV-Tests wurde anhand von insgesamt fünf RS-Virusstämmen ermittelt (zwei RS-Virus-A-Stämme und drei RS-Virus-B-Stämme).

Typ	RS-Virusstamm	LOD (TCID ₅₀)*
A	RS-Virus (Long)	3,95 x 10 ³
A	RS-Virus (A-2)	7,9 x 10 ³
B	RS-Virus (9320)	4,05 x 10 ²
B	RS-Virus (Washington)	7,03 x 10 ³
B	RS-Virus (Wildform)	5,56 x 10 ²

* TCID₅₀ = Gewebekultur-Infektionsdosis, bei der 50 % der Zellen lysiert werden.

Testspezifität

Der **Directigen** EZ RSV-Test wurde unter Verwendung von insgesamt 99 Mikroorganismen (58 Bakterien, zwei Hefepilzen und 39 Viren) beurteilt. Bakterien und Hefepilze wurden in Konzentrationen von 10⁸ KBE/mL (CFU KBE = koloniebildende Einheit) getestet. *Mycoplasma orale* wurde bei >10⁷ KBE/mL getestet. *Mycoplasma pneumoniae* wurde bei >10⁶ CCU/mL (CCU = Farbumschlagseinheiten) getestet. *Mycobacterium tuberculosis* wurde bei 7,0 x 10⁶ KBE/mL getestet. Virus-Isolate wurden in Titern zwischen 10^{3,5} und 10^{9,5} TCID₅₀/0,20 mL getestet. Influenzaviren wurden in Titern zwischen 10^{3,5} und 10^{9,5} CEID₅₀**/0,20 mL getestet. Keiner der aufgeführten Mikroorganismen zeigte beim **Directigen** EZ RSV-Test ein positives Ergebnis.

** CEID₅₀ = Gewebekultur-Infektionsdosis, bei der 50 % der Zellen lysiert werden.

Bakterien- und Hefepilz-Profil

<i>Acinetobacter baumannii</i> (calcoaceticus)	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp minnesota
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> -Cowan
<i>Candida glabrata</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II Gruppe D
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> Gruppe A
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus Spezies</i> , Gruppe B
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus Spezies</i> , Gruppe C
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria sicca</i>	<i>Streptococcus Spezies</i> , Gruppe F
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus Spezies</i> , Gruppe G
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Prevotella oralis</i>	
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		

Virus-Profil

Adenovirus, Typ 3	Influenza B/GL/1739/54
Adenovirus, Typ 5	Influenza B/Hongkong/5/72
Adenovirus, Typ 7	Influenza B/Lee/40
Adenovirus, Typ 10	Influenza B/Allen/45
Adenovirus, Typ 18	Influenza B/Maryland/1/59
Coronavirus	Influenza B/Taiwan/2/62
Coxsackie-Virus, Typ A9 (Griggs)	Influenza C/Taylor/1233/47
Coxsackie-Virus, Typ A9 (P.B. Bozek)	Masern-Virus
Coxsackie-Virus, Typ B5	Mumps-Virus
Coxsackie-Virus, Typ B6	Parainfluenza, Typ 1
Coxsackie-Virus, Typ A21	Parainfluenza, Typ 2
Zytomegalievirus	Parainfluenza, Typ 3
Echo-Virus, Typ 2	Rhinovirus, Typ 1A
Echo-Virus, Typ 3	Rhinovirus, Typ 2
Echo-Virus, Typ 6	Rhinovirus, Typ 13
Echo-Virus, Typ 11	Rhinovirus, Typ 15
Herpes-Simplex-Virus, Typ 1	Rhinovirus, Typ 16
Herpes-Simplex-Virus, Typ 2	Rhinovirus, Typ 37
Influenza A (H1N1)	Varicella-Zoster-Virus
Influenza A (H3N2)	

Störsubstanzen

Es wurden verschiedene Substanzen mit dem **Directigen** EZ RSV-Test analysiert, darunter Vollblut (2 %), rezeptfreie und rezeptpflichtige Medikamente. In den getesteten Konzentrationen störte keine der Substanzen den Assay.

Rezeptfreie Medikamente

Drei rezeptfreie Mundwässer (25 %)	Diphenhydramin-HCl (5 mg/mL)
Drei rezeptfreie Rachentropfen (25 %)	Pseudoephedrin-HCl (20 mg/mL)
Drei rezeptfreie Nasensprays (10 %)	Guajacol-Glycerylether (20 mg/mL)
4-Acetamidophenol (10 mg/mL)	Ibuprofen (10 mg/mL)
Acetylsalicylsäure (20 mg/mL)	Oxymetazolin (0,05 mg/mL)
Chlorpheniramin-Maleat (5 mg/mL)	Phenylephrin (1 mg/mL)
Dextromethorphan (10 mg/mL)	

Rezeptpflichtige Medikamente

Zanamavir (1 mg/mL)	Ribavirin (500 ng/mL)
Amantadin (500 ng/mL)	Synagis (0,1 mg/mL)
Rimantadin (500 ng/mL)	Albuterolsulfat (0,083 mg/mL)

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung
256030	Directigen EZ RSV (Kit mit je 30 Tests)
220115	BBL CultureSwab Sterile Single Swab (ein steriler Tupfer), Karton zu 100
220131	BBL CultureSwab Liquid Amies, flexibler Aluminiumdraht, Karton zu 50
220134	BBL CultureSwab Liquid Stuart, flexibler Aluminiumdraht, Karton zu 50
220220	BD Universal Viral Transport 3 mL Fläschchen, Karton zu 50
220250	Regular Flocked Swab, steriler Tupfer, einzeln verpackt, Karton zu 100
220251	Minitip Flocked Swab, steriler Tupfer, einzeln verpackt, Karton zu 100
220252	Flexible Flocked Swab, steriler Tupfer, einzeln verpackt, Karton zu 100

LITERATUR

Siehe den Abschnitt „References“ im englischen Text.

BD Directigen EZ RSV Per l'individuazione diretta del virus respiratorio sinciziale (RSV)

Italiano

USO PREVISTO

Il test **Directigen EZ RSV** è un dosaggio immunoenzimatico cromatografico rapido per l'individuazione qualitativa diretta degli antigeni del virus respiratorio sinciziale (VRS) in campioni di liquido di lavaggio nasale, aspirato nasofaringeo, tampone nasofaringeo e tampone/lavaggio nasofaringeo, prelevati da pazienti con sospetta infezione virale delle vie respiratorie. Questo test per uso diagnostico *in vitro* trova impiego come coadiuvante nella diagnosi delle infezioni da virus respiratorio sinciziale (VRS) nei neonati e nei pazienti pediatrici di età inferiore a 20 anni. Si raccomanda di confermare i risultati negativi mediante coltura cellulare.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Le infezioni virali delle vie respiratorie sono responsabili di numerose malattie. Il virus respiratorio sinciziale (VRS) è una causa predominante delle infezioni delle basse vie respiratorie nei bambini durante la stagione invernale.¹ Il VRS è risultato anche corresponsabile di infezioni respiratorie gravi in soggetti anziani e immunocompromessi.^{2,3} Recentemente, il VRS è stato identificato come la causa del 20% dei casi di malattie "tipo-influenza" in soggetti di età tra 15 e 44 anni.⁴

I metodi tradizionali per l'individuazione dei virus nelle vie respiratorie includono la coltura cellulare e la fissazione degli anticorpi in fluorescenza diretta (DFA).⁵⁻⁷ Recentemente, la reazione a catena della polimerasi (PCR) si è dimostrata clinicamente utile per l'individuazione dei virus delle vie respiratorie, incluso il VRS.⁸ Per l'individuazione di virus specifici, come Influenza A/B e VRS, sono disponibili dosaggi immunoenzimatici (EIA) e sistemi manuali rapidi. I test rapidi consentono una diagnosi tempestiva che permette di isolare e trattare opportunamente i pazienti in modo da prevenire la trasmissione nosocomiale di infezioni ad altri degenti con compromissione delle funzioni cardiache, respiratorie o immunitarie.⁹ I test rapidi facilitano inoltre la scelta di terapie antivirali appropriate.

I campioni più comuni per l'analisi del virus respiratorio sinciziale includono liquidi di lavaggio nasofaringeo, aspirati e tamponi nasofaringei. I campioni di liquido di lavaggio e di aspirato nasofaringeo hanno dato tuttavia risultati migliori rispetto ai tamponi e sono quindi preferibili.¹⁰

Il test di individuazione dell'antigene **Directigen EZ RSV** è un dosaggio immunoenzimatico cromatografico per l'individuazione degli antigeni del virus respiratorio sinciziale estratti da svariati campioni prelevati da pazienti sintomatici. La rapidità e la praticità del dosaggio **Directigen EZ RSV** ne consentono l'impiego come test per l'individuazione degli antigeni "STAT" VRS, e consentono di ottenere tempestivamente informazioni importanti ai fini di eventuali interventi antivirali e di altre decisioni cliniche o di supporto.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test **Directigen EZ RSV** è un dosaggio cromatografico per l'individuazione qualitativa degli antigeni del virus respiratorio sinciziale in campioni estratti da secreti delle vie respiratorie. Quando i campioni estratti vengono dispensati nel dispositivo di analisi, gli antigeni VRS A e/o B si legano al coniugato oro colloidale-anticorpo per formare un complesso antigene-anticorpo. Questo complesso migra sulla striscia per test fino all'area reattiva e viene catturato dalla riga di anticorpi VRS fissati sulla membrana. Il coniugato in eccesso si lega ad una seconda riga che comprende antigeni VRS disattivati e che serve da controllo funzionale. Un risultato positivo è indicato dalla comparsa di due righe di colore rosso-viola nella finestra dei risultati, una accanto alla "T" del test e l'altra accanto alla "C" del controllo. L'assenza di una riga rosso-viola accanto alla "T" e la presenza di una riga rosso-viola accanto alla "C" indicano un risultato negativo. Il test viene considerato non interpretabile se accanto alla "C" non si visualizza alcuna riga rosso-viola.

REAGENTI

Il kit **Directigen EZ RSV** comprende i seguenti componenti.

Dispositivi BD RSV	30	Ogni dispositivo contiene una riga di controllo con antigeni VRS disattivati e una riga per test con anticorpi monoclonali VRS fissati sulla membrana.
Reagente di estrazione E	4,0 mL	Estrazione, agente mucolitico e detergente, con 0,2% di sodio azide (conservante).
Controllo +	2,0 mL	Controllo positivo, cellule infettate con VRS e trattate con detergente, con 0,1% di sodio azide (conservante).
Controllo –	4,0 mL	Controllo negativo, cellule non infette e trattate con detergente, con 0,1% di sodio azide (conservante).
Provette DispensTube	30	Provette per l'estrazione dei campioni e la dispensazione dei campioni nel dispositivo.
Puntali DispensTube	30	Puntali per la filtrazione del campione dispensato nel dispositivo.

Materiali richiesti ma non forniti - Pipetta (in grado di dispensare 250 µL), cronometro, vortex e terreno di trasporto (vedere "Prelievo e trattamento dei campioni").

Avvertenze e precauzioni:

Per uso diagnostico *in vitro*.

1. Il reagente di controllo + per VRS e la riga di controllo sul dispositivo **BD RSV** sono stati preparati usando cellule di coltura di tessuto infettate con VRS, che sono state disattivate mediante trattamento con detergente e sonificazione e successivamente analizzate utilizzando procedure di dosaggio biologico.
2. Non usare il kit se il controllo + e il controllo – non danno i risultati previsti.
3. I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e il virus dell'immunodeficienza umana. Nel maneggiare qualsiasi oggetto contaminato con sangue o altri liquidi biologici, occorre attenersi alle direttive del presidio locale e alle "precauzioni standard".¹¹⁻¹⁴
4. Non usare i componenti del kit oltre la data di scadenza.
5. NON mescolare reagenti provenienti da kit con numeri di lotto diversi. Non riutilizzare il dispositivo.
6. I reagenti contengono sodio azide, una sostanza nociva per inalazione, contatto con la pelle e ingestione. A contatto con acidi, la sodio azide libera gas altamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, producendo azidi metalliche altamente esplosive. All'eliminazione, far scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Preparazione e conservazione - I kit possono essere conservati a 2–30 °C. NON CONGELARE. Al momento dell'uso per il test, i reagenti e i dispositivi **BD RSV** devono essere a temperatura ambiente (15–30 °C).

PRELIEVO E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Trasporto e conservazione dei campioni - I campioni freschi devono essere trasportati al laboratorio quanto più rapidamente possibile, in un sistema adatto per trasporto di liquidi. Analizzare i campioni quanto prima dopo il prelievo. Se necessario, i campioni possono essere conservati a 2–8 °C per un massimo di 72 h o a –20 °C per un massimo di sette giorni dal prelievo.

È indispensabile seguire i metodi corretti di prelievo e preparazione dei campioni. Non centrifugare i campioni prima dell'analisi con il dispositivo **Directigen EZ RSV**, in quanto l'eliminazione del materiale cellulare compromette la sensibilità del test.

Terreni di trasporto - I seguenti terreni di trasporto sono stati analizzati e sono risultati compatibili con il test **Directigen EZ RSV**.

Soluzione fisiologica	Brodo al triptone di soia Trypticase + 0,5% di gelatina*
Soluzione fisiologica tamponata con fosfato (PBS)	Brodo al triptone di soia Trypticase + 0,5% di BSA
PBS + 0,5% di gelatina*	Terreno minimo essenziale di Earle (EMEM)
PBS + 0,5% di sieralbumina bovina (BSA)	EMEM + 0,5% di BSA
Brodo di infuso di vitello (VIB)	EMEM + 1% di BSA
VIB + 0,5% di BSA	EMEM + 0,5% di idrolizzato di lattalbumina
Soluzione salina bilanciata di Hank	EMEM + 1,0% di idrolizzato di lattalbumina
Terreno M4*	Stuart modificato (liquido) CultureSwab
Terreno M4-RT*	Terreno Amies (liquido) CultureSwab
Terreno M5	Starplex Multitrans*
Terreno di Bartels ViraTrans	Terreno di trasporto virale universale BD*
Fosfato di saccarosio (2 cucchiaini)	

*Il terreno contiene gelatina.

Prelievo e trattamento dei campioni - I campioni di liquido di lavaggio e aspirato nasofaringeo hanno dato tuttavia risultati migliori rispetto ai tamponi nasofaringei e sono quindi preferibili.^{9,10} I campioni accettabili per l'analisi con il test **Directigen EZ RSV** includono liquidi di lavaggio nasofaringeo, aspirati e tamponi nasofaringei, tamponi/lavaggi nasofaringei.

NOTA - Per i prelievi nasofaringei (NPS), si raccomanda l'uso di tamponi con punta di poliestere o rayon con filo di alluminio. I tamponi floccati sono stati testati nel corso di studi analitici e riscontrati compatibili con il test **Directigen EZ RSV**.¹⁵ I tamponi con punta in alginato di calcio non sono accettabili per il prelievo di campioni virali.¹⁶

Procedura per i campioni di lavaggio nasofaringeo e tampone/lavaggio nasofaringeo.

1. Si raccomandano campioni da 2–3 mL di volume.
2. Evitare l'impiego di campioni di lavaggio di volume eccessivo in quanto potrebbero ridurre la sensibilità del test.
3. Analizzare il campione come descritto in "Procedura del test".

Procedura per i tamponi nasofaringei.

1. È possibile aggiungere i tamponi a 350 µL–2 mL di terreno di trasporto.
2. Agitare con vortex il tampone e il terreno di trasporto.
3. Rimuovere quanto più liquido possibile dal tampone.
NOTA - Alternativamente, è possibile lasciare il tampone nella provetta.
4. Eliminare il tampone nell'apposito contenitore.
5. Analizzare il campione come descritto in "Procedura del test".

Procedura per gli aspirati nasofaringei.

1. Prima dell'analisi, è possibile disperdere i campioni in 1–3 mL di terreno di trasporto o di soluzione fisiologica.
2. Analizzare il campione come descritto in "Procedura del test".

PROCEDURA

Procedura del test

NOTE

- Al momento dell'uso per il test, i reagenti, i campioni e i dispositivi **BD RSV** devono essere a temperatura ambiente (15–30 °C).
- Mescolare accuratamente tutti i campioni prima di prelevarne un'aliquota per l'estrazione. Non centrifugare i campioni prima di usarli con il dispositivo **Directigen EZ RSV**, dato che la rimozione del materiale cellulare influisce negativamente sulla sensibilità del test.
- Per garantire una corretta dispensazione, mantenere i flaconi dei reagenti e le provette **DispensTube** in posizione verticale (a circa 2,5 cm dal pozzetto per campione del dispositivo **BD RSV** o dalla provetta **DispensTube**), lasciando cadere con attenzione il reagente goccia a goccia in rapida successione.

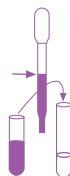
1. Rimuovere un dispositivo **BD RSV** dalla busta in foglio d'alluminio immediatamente prima dell'uso.
2. Etichettare un dispositivo **BD RSV** e una provetta **DispensTube** per il controllo o il campione da analizzare.
3. Disporre la provetta **DispensTube** etichettata nell'area designata della stazione di lavoro o del cestello.
4. Mescolare con attenzione il reagente di estrazione E capovolgendo il flacone e dispensarne 3 gocce nella provetta **DispensTube**. Dispensare le gocce tenendo il flacone di reagente in posizione verticale (a distanza di circa 2,5 cm dalla provetta **DispensTube**).



5. Mescolare accuratamente il campione o il controllo ed analizzare come indicato in seguito.

a. Campioni

1. Agitare con vortex o mescolare accuratamente. Non centrifugare.
2. Pipettare 250 µL di campione nella provetta **DispensTube**.



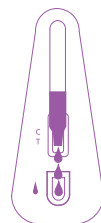
b. Controlli

1. Mescolare a bassa velocità i flaconi di controllo positivo e negativo.
 2. Dispensare 6 gocce di controllo + nella provetta **DispensTube** appropriata.
 3. Dispensare 6 gocce di controllo – nella provetta **DispensTube** appropriata.
6. Inserire un puntale **DispensTube** in ciascuna provetta **DispensTube**.
NOTA - Non utilizzare puntali di altri prodotti Directigen.
 7. Agitare con vortex o mescolare accuratamente.

8. Capovolgere la provetta **DispensTube** e trattenendola sulla metà superiore, lontano dal puntale, comprimerla delicatamente per dispensare tre (3) gocce del campione estratto nel pozzetto per campione **BD RSV** debitamente etichettato.

NOTA - Comprime la provetta vicino al puntale si rischia di espellere il puntale e di causare una fuoriuscita del contenuto della provetta.

9. Leggere i risultati dopo 15 min o al massimo dopo 60 min. I risultati positivi possono essere riportati anche dopo solo 5 min, purché siano visibili le righe del test e del controllo.



NOTA: Se si utilizza un terreno di trasporto contenente gelatina, i risultati devono essere letti entro 15 min. Vedere "Limitazioni della procedura".

10. Leggere i risultati in una zona bene illuminata e registrarli.

Controllo di qualità

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in osservanza delle norme locali, regionali e/o nazionali o dei requisiti di accreditazione e delle disposizioni standard di controllo di qualità del laboratorio utilizzato. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare i documenti CLSI (già NCCLS) EP12-A¹⁷ e 42 CFR 493.1202 (c)¹⁸. Ogni dispositivo **Directigen EZ RSV** è dotato di controlli integrati, che includono le seguenti funzioni.

Controllo interno - La comparsa di una riga di controllo rosso-viola rappresenta un controllo interno per antigene (controllo interno positivo) che serve da verifica del reagente per il coniugato e l'anticorpo di cattura e garantisce che il flusso capillare sia stato adeguato. L'assenza di questa riga indica che il test non è interpretabile.

Controllo della membrana del test (controllo interno negativo) - La superficie non reattiva della membrana che circonda il controllo interno positivo e le righe del test diventano contrastanti quando la reazione è positiva e servono quindi da sfondo per l'interpretazione del colore della reazione.

Controlli esterni positivi e negativi

Insieme a ciascun kit vengono forniti anche controlli liquidi positivi (controllo +) e negativi (controllo -) da usare come metodo supplementare di controllo di qualità per dimostrare una reazione positiva o negativa. I controlli esterni vanno usati nella procedura di controllo della qualità almeno per ogni nuova partita o spedizione ricevuta. La comparsa di una riga rosso-viola nella finestra dei risultati, accanto alla "T", quando viene usato il controllo +, conferma ulteriormente che le proprietà leganti della membrana all'antigene VRS sono valide. Non riportare i risultati se il controllo + o il controllo - non danno risultati idonei.

I controlli liquidi possono essere usati anche per dimostrare una reazione positiva debole. A questo scopo, è possibile diluire insieme il controllo + e il controllo - nella stessa provetta **DispensTube** (3 gocce di controllo + e 3 gocce di controllo -).

Se i risultati non corrispondono a quelli attesi, riportarli nel referto del paziente. Rivolgersi al rappresentante BD di zona o all'assistenza tecnica.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



Test positivo (antigene presente) – Si visualizzano una riga visibile di colore rosso-viola nella finestra dei risultati accanto alla "T" del test e una riga rosso-viola accanto alla "C" del controllo. Questo indica che è stato possibile individuare l'antigene VRS nel campione. Il colore dello sfondo deve essere da bianco a rosa chiaro.

+



Test negativo (nessun antigene individuato) – Accanto alla "T" del test non si visualizza alcuna riga rosso-viola. Questo indica che non è stato possibile individuare l'antigene VRS nel campione. La comparsa di una riga rosso-viola accanto alla "C" del controllo indica che le prestazioni della procedura di analisi e dei reagenti sono adeguate. Il colore dello sfondo deve essere da bianco a rosa chiaro.

-



Test non interpretabile – Il test non è interpretabile se non è visibile una riga rosso-viola accanto alla "C" del controllo o se il colore di sfondo interferisce con l'interpretazione del test o della riga di controllo. Occorre ripetere il test non interpretabile, ottenere un nuovo campione e rianalizzarlo o inviare il campione al laboratorio clinico per isolamento della coltura.

non interpretabile

REFERTAZIONE DEI RISULTATI

Positivo Positivo per la presenza di antigene VRS. È possibile che si verifichi un risultato positivo in assenza di virus vitali.

Negativo Negativo per la presenza di antigene VRS. Non è possibile escludere un'infezione da VRS in quanto l'antigene presente nel campione potrebbe non raggiungere il limite di individuazione del test. Si raccomanda di confermare mediante coltura i campioni negativi.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Il test **Directigen EZ RSV** è in grado di individuare particelle di VRS sia vitali che non vitali. Le prestazioni del test **Directigen EZ RSV** dipendono dalla carica di antigene e possono non essere correlate alla coltura di tessuto ottenuta dallo stesso campione. Con questo test non è possibile stabilire l'eziologia di infezioni respiratorie causate da microrganismi diversi dal virus respiratorio sinciziale.
2. Un prelievo di campione inadeguato, un trattamento o trasporto improprio del campione o bassi livelli di diffusione del virus possono dar luogo a risultati falsi negativi. Di conseguenza, un risultato negativo del test non esclude la possibilità di un'infezione da VRS. Come per tutte le procedure diagnostiche, i risultati ottenuti con il test **Directigen EZ RSV** vanno usati contestualmente ad altre informazioni cliniche a disposizione del medico.
3. Negli immunodosaggi cormatografici, è più probabile che i risultati falsi positivi siano associati a righe debolmente visibili piuttosto che a righe marcatamente visibili. Come per tutte le procedure diagnostiche, i risultati ottenuti con il test **Directigen EZ RSV** vanno usati contestualmente ad altre informazioni cliniche a disposizione del medico.
4. La validità del test **Directigen EZ RSV** non è stata dimostrata per l'identificazione e/o la conferma di isolati in coltura di tessuto, quindi il test non deve essere utilizzato a tale scopo.
5. Esaminare attentamente il contenuto del terreno di trasporto utilizzato per determinare se esso contiene o no gelatina. Se si utilizza un terreno di trasporto contenente gelatina, i risultati devono essere letti entro 15 min. Se la lettura avviene oltre i 15 min, in corrispondenza della posizione di test (T) della finestra di lettura compariranno delle linee chiare.
6. Il gel Amies **CultureSwab Plus** non è compatibile con il test **Directigen EZ RSV**. La conservazione prolungata dei campioni in questo terreno può dar luogo a risultati falsi negativi.
7. Non è stata studiata la reattività crociata di questo dosaggio con il metapneumovirus umano.
8. È possibile che gli anticorpi monoclonali non rilevino tutte le varianti antigeniche o i nuovi ceppi di VRS.
9. Il test **Directigen EZ RSV** non è stato valutato con un numero di campioni delle basse vie respiratorie, tamponi nasali, naso-gola e faringei sufficiente per valutare le prestazioni metodologiche di questo tipo di campioni.

VALORI ATTESI

Il tasso di positività osservato nei test per VRS varia a seconda del metodo usato per il prelievo, del sistema di trattamento/trasporto impiegato, del metodo di individuazione, del periodo dell'anno, dell'età del paziente, della località geografica e soprattutto dell'incidenza della malattia nella regione. La prevalenza osservata nelle colture durante lo studio clinico è risultata compresa tra 4,2 e 46,5%.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Le prestazioni metodologiche del test **Directigen EZ RSV** sono state determinate in uno studio multicentrico condotto durante la stagione 2001–2002 del virus respiratorio sinciziale in sette centri clinici in Canada, Hong Kong e in aree geografiche diverse degli Stati Uniti.

Tutti i campioni sono stati prelevati e trasportati al laboratorio seguendo la procedura specifica di ciascun laboratorio. Ogni campione è stato valutato con il test **Directigen EZ RSV** e mediante coltura cellulare e utilizzando il metodo convenzionale di laboratorio (vale a dire DFA, EIA). I campioni rimasti sono stati archiviati a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o a temperatura inferiore.

Per la coltura cellulare, una parte del campione è stata inoculata in linee cellulari appropriate per coltura di virus respiratori, in osservanza delle procedure vigenti in ciascun laboratorio. Le cellule sono state esaminate per verificare la presenza di effetti citopatici (CPE). Le cellule infettate sono state marcate in immunofluorescenza per confermare la presenza di VRS. La negatività dei campioni negativi per CPE è stata confermata mediante marcatura immunofluorescente specie-specifica.

Con il test **Directigen EZ RSV** sono stati valutati complessivamente 1176 campioni di liquido di lavaggio e aspirato nasofaringeo, tampone nasofaringeo e tampone/lavaggio nasofaringeo, prelevati da pazienti con sospetta infezione da VRS.

Prestazioni cliniche - Per tutti i campioni valutati per la presenza di VRS, la sensibilità e la specificità complessiva del test **Directigen EZ RSV** rispetto alla coltura è stata rispettivamente dell'80% e del 91%. L'incidenza complessiva dei risultati non interpretabili è stata dello 0%. La Tabella 1 illustra le prestazioni metodologiche del test **Directigen EZ RSV** rispetto alla coltura cellulare per ciascun tipo di campione. La Tabella 2 illustra le prestazioni metodologiche rispetto alla coltura cellulare per ciascun centro clinico.

Tabella 1 - Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ RSV (EZ) rispetto alla coltura cellulare per tutti i tipi di campione

		Coltura/EZ					
Tipo di campione	n	+/+	-/+ ^a	+/-	-/-	Sensibilità (%) (95% CI)	Specificità (%) (95% CI)
Lavaggio nasofaringeo (NPW)	348	129	29	19	171	87,2 (80,7–92,1)	85,5 (79,8–90,1)
Aspirato nasofaringeo (NPA)	401	90	24	27	260	76,9 (68,2–84,2)	91,6 (87,7–94,5)
Tampone/lavaggio nasofaringeo (NPSW)	160	28	6	11	115	71,8 (55,1–85,0)	95,0 (89,7–98,2)
Tampone nasofaringeo (NPS)	267	20	20	10	217	66,7 (47,2–82,7)	91,6 (87,3–94,8)

(+) = VRS positivo (-) = VRS negativo

^a Il metodo della PCR (reazione a catena della polimerasi) usato per analizzare i campioni negativi alla coltura e positivi al test **Directigen EZ RSV** non è approvato dall'FDA.

Settantanove (79) campioni sono risultati negativi alla coltura e positivi al test **Directigen EZ RSV**. L'analisi della PCR è stata eseguita su 73 dei 79 campioni; 46 di questi 73 campioni sono risultati PCR-positivi.

Tabella 2 - Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ RSV (EZ) rispetto alla coltura cellulare per i siti clinici

			Coltura/EZ					
Sito	Tipo di campione	n	+/+	-/+	+/-	-/-	Sensibilità (%) (95% CI)	Specificità (%) (95% CI)
Sito 1	50% NPW 45% NPA 5% NPS	38	11	2	0	25	100 (71,5–100)	92,6 (83,8–99,4)
Sito 2	100% NPW	173	56	18	15	84	78,9 (67,6–87,7)	82,4 (73,6–89,2)
Sito 3	59% NPA 37% NPW 4% NPS	195	79	24	13	79	85,9 (77,1–92,3)	76,7 (67,3–84,5)
Sito 4	100% NPS	207	4	17	5	181	44,4 (13,7–78,8)	91,4 (86,6–94,9)
Sito 5	73% NPSW 24% NPS 2% NPW 1% NPA	219	46	8	15	150	75,4 (62,7–85,5)	94,9 (90,3–97,8)
Sito 6	100% NPW	77	31	0	3	43	91,2 (76,3–98,1)	100 (91,8–100)
Sito 7	100% NPA	267	40	10	16	201	71,4 (57,8–82,7)	95,3 (91,5–97,7)

(+) = VRS positivo (-) = VRS negativo

I risultati positivi del test **Directigen EZ RSV** si sono distribuiti su un range di righe da debolmente a marcatamente visibili. Dei 70 campioni positivi al test **Directigen EZ RSV** con righe debolmente visibili, 39 sono risultati positivi alla coltura e 58 in tutto sono risultati positivi all'analisi con uno o più metodi (coltura, DFA, EIA o PCR^a). Dei 170 campioni positivi al test **Directigen EZ RSV** con righe visibili, 130 sono risultati positivi alla coltura e 166 in tutto

sono risultati positivi all'analisi con uno o più metodi (coltura, DFA, EIA o PCR^a). Dei 106 campioni positivi al test **Directigen** EZ RSV con righe marcatamente visibili, 98 sono risultati positivi alla coltura e 106 in tutto sono risultati positivi all'analisi con uno o più metodi (coltura, DFA, EIA o PCR^a).

^a Il metodo della PCR (reazione a catena della polimerasi) usato per analizzare i campioni negativi alla coltura e positivi al test **Directigen** EZ RSV non è approvato dall'FDA.

Riproducibilità - La riproducibilità del test **Directigen** EZ RSV è stata valutata presso tre centri. Il pannello di riproducibilità con 12 campioni simulati di VRS includeva quattro repliche di antigene VRS di basso livello positivo (vicino al limite di individuazione [LOD]) e quattro repliche di antigene VRS di livello positivo medio, seminate nel diluente del controllo negativo. Il pannello includeva anche quattro campioni simulati VRS-negativi come diluente di controllo negativo non seminato. La riproducibilità complessiva del test **Directigen** RSV EZ è stata del 99,1%.

Studi analitici

Sensibilità analitica (Limite di individuazione)

Il limite di individuazione (LOD) del test **Directigen** EZ RSV è stato stabilito per un totale di cinque ceppi di VRS, di cui due di VRS A e tre di VRS B.

Tipo	Ceppo virale di VRS	LOD (TCID ₅₀)*
A	VRS (Log)	3,95 x 10 ³
A	VRS (A-2)	7,9 x 10 ³
B	VRS (9320)	4,05 x 10 ²
B	VRS (Washington)	7,03 x 10 ³
B	VRS (Wild-type)	5,56 x 10 ²

* TCID₅₀ = Dose infettiva di coltura di tessuto in cui il 50% delle cellule sono lisate.

Specificità analitica

Il test **Directigen** EZ RSV è stato valutato mediante l'impiego di 99 microrganismi (58 batteri, due lieviti e 39 virus). I batteri e i lieviti sono stati analizzati a concentrazioni di 10⁸ CFU/mL. Il *Mycoplasma orale* è stato analizzato a >10⁷ CFU/mL. Il *Mycoplasma pneumoniae* è stato analizzato a >10⁶ CCU/mL (CCU – unità che cambiano colore). Il *Mycobacterium tuberculosis* è stato analizzato a >7,0 x 10⁶ CFU/mL. Gli isolati virali sono stati analizzati a titoli tra 10^{3,5} e 10^{9,5} TCID₅₀/0,20 mL. I virus dell'influenza sono stati analizzati a titoli tra 10^{3,5} e 10^{9,5} CEID₅₀**/0,20 mL. Nessuno dei microrganismi elencati è risultato positivo al test **Directigen** EZ RSV.

** CEID₅₀ = Dose infettiva di embrioni di pulcino in cui il 50% degli embrioni sono infettati.

Pannello di batteri e lieviti

<i>Acinetobacter baumannii</i> (<i>calcoaceticus</i>)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp <i>minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> -Cowan
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II gruppo D
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> gruppo A
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo B
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo C
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo F
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus</i> <i>anaerobius</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo G
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Porphyromonas</i> <i>asaccharolyticus</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Prevotella oralis</i>	
<i>Kingella kingae</i>		

Pannello virale

Adenovirus, tipo 3	Influenza B/GL/1739/54
Adenovirus, tipo 5	Influenza B/Hong Kong/5/72
Adenovirus, tipo 7	Influenza B /Lee/40
Adenovirus, tipo 10	Influenza B/Allen/45
Adenovirus, tipo 18	Influenza B/Maryland/1/59
Coronavirus	Influenza B/Taiwan/2/62
Coxsackievirus, tipo A9 (Griggs)	Influenza C/Taylor/1233/47
Coxsackievirus, tipo A9 (P.B. Bozek)	Virus del morbillo
Coxsackievirus, tipo B5	Virus della parotite
Coxsackievirus, tipo B6	Parainfluenza, tipo 1
Coxsackievirus, tipo A21	Parainfluenza, tipo 2
Cytomegalovirus	Parainfluenza, tipo 3
Echovirus, tipo 2	Rhinovirus, tipo 1A
Echovirus, tipo 3	Rhinovirus, tipo 2
Echovirus, tipo 6	Rhinovirus, tipo 13
Echovirus, tipo 11	Rhinovirus, tipo 15
Virus Herpes Simplex, tipo 1	Rhinovirus, tipo 16
Virus Herpes Simplex, tipo 2	Rhinovirus, tipo 37
Influenza A (H1N1)	Virus Varicella-Zoster
Influenza A (H3N2)	

Sostanze interferenti

Con il test **Directigen EZ RSV** sono state analizzate varie sostanze, tra cui sangue intero al 2%, farmaci da banco e farmaci su prescrizione medica. Nel dosaggio non sono state rilevate interferenze per alcuna delle sostanze ai livelli analizzati.

Farmaci da banco

Tre colluttori da banco al 25%	Difenidramina cloridrato a 5 mg/mL
Tre preparazioni da banco in gocce per il mal di gola al 25%	Pseudoefedrina cloridrato a 20 mg/mL
Tre spray nasali da banco al 10%	Gliceril-etero guaiacolo a 20 mg/mL
4-acetamidofenolo a 10 mg/mL	Ibuprofene 10 mg/mL
Acido acetilsalicilico a 20 mg/mL	Ossimetazolina a 0,05 mg/mL
Clorfeniramina maleato a 5 mg/mL	Fenilefedrina a 1 mg/mL
Destrometorfano a 10 mg/mL	

Farmaci su prescrizione medica

Zanamavir a 1 mg/mL	Ribavirina a 500 ng/mL
Amantadina a 500 ng/mL	Sinagis a 0,1 mg/mL
Rimantadina a 500 ng/mL	Albuterolo solfato a 0,083 mg/mL

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
256030	Directigen EZ RSV - 30 test per kit
220115	BBL CultureSwab Sterile Single Swab (tampone singolo sterile), conf. da 100
220131	BBL CultureSwab Liquid Amies, filo flessibile in alluminio, conf. da 50
220134	BBL CultureSwab Liquid Stuart, filo flessibile in alluminio, conf. da 50
220220	BD Universal Viral Transport , flaconcino da 3 mL, conf. da 50
220250	Regular Flocked Swab, tampone singolo sterile, conf. da 100
220251	Minitip Flocked Swab, tampone singolo sterile, conf. da 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, tampone singolo sterile, conf. da 100

RIFERIMENTI

Vedere la sezione "References" nel testo inglese.

BD Directigen EZ RSV

Para a detecção directa do vírus sincicial respiratório (RSV)

Português

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O teste **Directigen EZ RSV** consiste num imunoensaio cromatográfico rápido para a detecção directa e qualitativa do antigénio do vírus sincicial respiratório (RSV) em amostras de lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, zaragatoas nasofaríngeas e zaragatoas/lavados nasofaríngeos em doentes nos quais existe suspeita de infecção respiratória viral. Este teste destina-se a ser utilizado no diagnóstico *in vitro* para ajudar a diagnosticar infecções do vírus sincicial respiratório (RSV) em recém-nascidos e doentes pediátricos com idade inferior a 20 anos. É recomendado que os resultados negativos sejam confirmados através da cultura em células.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

As infecções virais do tracto respiratório são responsáveis por muitas doenças. Durante a estação fria, o vírus sincicial respiratório (RSV) é uma das principais causas de infecção do tracto respiratório inferior em crianças.¹ O RSV foi também implicado em infecções respiratórias graves em idosos e indivíduos imunocomprometidos.^{2,3} Mais recentemente, o RSV foi identificado como o agente responsável por 20% das doenças do "tipo gripal" em indivíduos entre os 15 e 44 anos de idade.⁴

Os métodos tradicionais para a detecção de vírus respiratórios incluem a cultura em células e a utilização de anticorpos fluorescentes directos (DFA).⁵⁻⁷ Mais recentemente, a PCR (reação em cadeia da polimerase) demonstrou utilidade clínica na detecção de vírus respiratórios, incluindo o RSV.⁸ Existem imunoensaios enzimáticos (EIA) e sistemas manuais rápidos para vírus específicos, tais como o Influenza A/B e RSV. Os testes rápidos permitem um diagnóstico célere, para que os doentes possam ser adequadamente isolados e tratados de forma a evitar a disseminação nosocomial das infecções a indivíduos com funções cardíacas, respiratórias ou imunitárias comprometidas.⁹ Além disso, os testes rápidos ajudam a seleccionar a terapêutica antiviral apropriada.

As amostras colhidas mais frequentemente para o teste do RSV incluem lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos e zaragatoas nasofaríngeas. Foi demonstrado que os lavados e aspirados nasofaríngeos são melhores que as zaragatoas, pelo que constituem as amostras preferenciais.¹⁰

O teste de detecção de antigénios **Directigen EZ RSV** consiste num ensaio cromatográfico para detectar antigénios do RSV extraídos a partir de várias amostras de doentes sintomáticos. A velocidade e o fluxo de trabalho do teste **Directigen EZ RSV** torna-o aplicável como um teste de detecção de antigénios RSV "STAT", que fornece informações rápidas e relevantes que constituem um auxiliar na intervenção antiviral e noutras decisões clínicas ou de suporte.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O teste de detecção de antigénios **Directigen EZ RSV** consiste num ensaio cromatográfico para detectar qualitativamente a presença de antigénios do RSV em amostras extraídas a partir de colheitas efectuadas no tracto respiratório. Quando as amostras extraídas são adicionadas ao dispositivo de teste, os antigénios RSV A e/ou B ligam-se ao conjugado anticorpo-ouro coloidal existente na tira de teste, formando um complexo antigénio-anticorpo. Este complexo migra ao longo da tira de teste até à área de reacção e é capturado pela linha de anticorpos RSV existente na membrana. O excesso de conjugado liga-se a uma segunda linha de antigénio RSV inactivado que funciona como um controlo funcional. Um resultado positivo é indicado pelo aparecimento de duas linhas púrpura avermelhadas na janela de leitura, uma linha adjacente ao "T" de Teste e a outra adjacente ao "C" de Controlo. A ausência de uma linha púrpura avermelhada adjacente ao "T" e a presença de uma linha púrpura avermelhada adjacente ao "C" indicam um resultado negativo. O teste não pode ser interpretado se não aparecer uma linha púrpura avermelhada adjacente a "C".

REAGENTES

No kit **Directigen EZ RSV** estão incluídos os seguintes reagentes:

Dispositivos BD RSV	30	Cada dispositivo contém uma linha de controlo de antígeno RSV inactivado e uma linha de teste de anticorpo RSV monoclonal na membrana.
Reagente E de extracção	4,0 mL	Extracção, agente mucolítico e detergente, com azida de sódio a 0,2% (conservante).
Controlo +	2,0 mL	Controlo Positivo, células tratadas com detergente infectadas com RSV, com azida de sódio a 0,1% (conservante).
Controlo –	4,0 mL	Controlo Negativo, células tratadas com detergente não infectadas com RSV, com azida de sódio a 0,1% (conservante).
Tubos DispensTube	30	Tubos para a extracção da amostra e colocação da amostra dentro do dispositivo.
Pontas DispensTube	30	Pontas para filtrar a amostra, quando esta é colocada dentro do dispositivo.

Material necessário mas não fornecido: Pipeta (com capacidade para dispensar 250 µL), cronómetro, vortex e meios de transporte (consulte a secção “Colheita e Manipulação das Amostras”).

Advertências e precauções:

Para uso diagnóstico *in vitro*

1. O reagente RSV Controlo + e a linha de controlo no dispositivo **BD RSV** foram preparados a partir de células de cultura de tecidos infectadas com RSV; os vírus foram inactivados, através de tratamento com detergente e ultra-sons, e testados posteriormente através de ensaios biológicos.
2. Não utilizar o kit se o Controlo + e o Controlo – não produzirem os resultados apropriados.
3. Nas amostras podem existir microrganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as “Precauções padrão”¹¹⁻¹⁴ e as linhas de orientação da instituição.
4. Não utilizar componentes do kit para além do prazo de validade.
5. **NÃO** misture reagentes provenientes de kits com números de lote diferentes. Não reutilize o dispositivo.
6. Os reagentes contêm azida de sódio, a qual é nociva por inalação, em contacto com a pele e quando ingerida. O contacto com ácidos liberta um gás altamente tóxico. Se ocorrer contacto com a pele, lavar imediatamente com água em abundância. A azida de sódio pode reagir com as canalizações de chumbo e cobre, produzindo azidas metálicas altamente explosivas. Ao eliminar, dever-se-á irrigar com um grande volume de água para evitar a sua acumulação.

Armazenamento e manipulação: Os kits devem ser armazenados a temperaturas entre os 2 e os 30°C. **NÃO CONGELAR.** Os reagentes e os dispositivos **BD RSV** deverão encontrar-se à temperatura ambiente (15–30°C) quando forem utilizados para os testes.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Transporte e armazenamento de amostras: Transporte as amostras frescas para o laboratório o mais rapidamente possível, num sistema de transporte de líquidos adequado. Processar as amostras o mais rapidamente possível após a colheita. Se necessário, as amostras podem ser armazenadas entre 2 e 8°C durante um período máximo de 72 h, ou a –20°C durante um período máximo de sete dias após a colheita.

O cumprimento dos métodos correctos de colheita e preparação das amostras é crucial. Antes de analisar as amostras com o Teste **Directigen EZ RSV** não as centrifugue, pois a remoção de material celular afectará negativamente a sensibilidade do teste.

Meios de transporte: Os meios de transporte apresentados em seguida foram testados e são compatíveis com o Teste **Directigen EZ RSV**:

Soro fisiológico normal	Meio líquido de soja Trypticase + gelatina a 0,5%*
Soro fisiológico tamponado com fosfato (PBS)	Meio líquido de soja Trypticase + BSA a 0,5%
PBS + gelatina a 0,5%*	Meio essencial mínimo de Earle (EMEM)
PBS + albumina sérica bovina (BSA) a 0,5%	EMEM + BSA a + 0,5%
Meio líquido de infusão de vitela (VIB)	EMEM + BSA a 1%
VIB + BSA a 0,5%	EMEM + hidrolisado de lactalbumina a + 0,5%
Solução de sais equilibrada de Hank	EMEM + hidrolisado de lactalbumina a 1,0%
Meio M4*	CultureSwab (líquido) de Stuart modificado
Meio M4-RT*	CultureSwab de Amies (líquido)
Meio M5	Starplex Multitrans*
Meio Bartels ViraTrans	Meio de Transporte Viral Universal BD *
Fosfato de sacarose (2-SP)	

*O meio contém gelatina.

Colheita e preparação das amostras: Foi demonstrado que os lavados e aspirados nasofaríngeos são melhores que as zaragoatoas nasofaríngeas, constituindo as amostras preferenciais.^{9,10} As amostras aceitáveis para realização de testes com o teste **Directigen EZ RSV** incluem lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, zaragoatoas nasofaríngeas e zaragoatoas/lavados nasofaríngeos.

NOTA: Para as zaragoatoas nasofaríngeas (NPS), são recomendadas as zaragoatoas com ponta de poliéster ou de seda sintética e fio de alumínio. As zaragoatoas com ponta "flocked" foram testadas durante estudos analíticos e determinadas compatíveis com o Teste **Directigen EZ RSV**.¹⁵ As zaragoatoas com ponta de alginato de cálcio não são aceitáveis para a colheita de amostras virais.¹⁶

Procedimento para a obtenção de lavados nasofaríngeos e zaragoatoas/lavados nasofaríngeos:

1. São recomendados volumes de amostras de 2–3 mL.
2. Devem ser evitados volumes de lavagem excessivos, pois poderão resultar numa diminuição da sensibilidade do teste.
3. Processe a amostra conforme descrito em "Procedimento do teste".

Procedimento para a obtenção de lavados nasofaríngeos:

1. As amostras das zaragoatoas podem ser adicionadas a 350 µL–2 mL de meio de transporte.
2. Misture no vortex a zaragoatoa e o meio de transporte.
3. Retire a maior quantidade de líquido possível da zaragoatoa.

NOTA: Em alternativa, a zaragoatoa poderá ficar no tubo.

4. Elimine a zaragoatoa num recipiente apropriado.
5. Processe a amostra conforme descrito em "Procedimento do teste".

Procedimento para a obtenção de aspirados nasofaríngeos:

1. Antes do processamento, as amostras podem ser dispersas em 1–3 mL de meio de transporte ou soro fisiológico.
2. Processe a amostra conforme descrito em "Procedimento do teste".

PROCEDIMENTO

Procedimento do teste

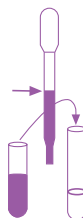
OBSERVAÇÕES:

- Os reagentes, as amostras e os dispositivos **BD RSV** deverão encontrar-se à temperatura ambiente (15–30°C) quando forem utilizados nos testes.
 - Antes de retirar uma alíquota para extracção, misture totalmente as amostras. Antes de analisar as amostras com o teste **Directigen EZ RSV** não as centrifugue, pois a remoção de material celular afectará negativamente a sensibilidade do teste.
 - Para garantir uma colocação correcta, os tubos **DispensTube** e frascos de reagentes deverão ser mantidos em posição vertical (a cerca de 2,5 cm do poço de amostras do dispositivo **BD RSV** ou do **DispensTube**), enquanto o utilizador coloca suavemente uma gota de cada vez, em sucessão rápida.
1. Retire um dispositivo **BD RSV** da bolsa de metal laminado imediatamente antes da sua utilização.

2. Identifique um dispositivo **BD RSV** e um tubo **DispensTube** para o controlo ou amostra a ser testada.
3. Coloque o **DispensTube** identificado na área designada da estação de trabalho ou do suporte de tubos.
4. Misture suavemente o Reagente E de extracção, com movimentos de inversão. Adicione 3 gotas ao **DispensTube**. Mantenha o frasco de reagente em posição vertical (a cerca de 2,5 cm do **DispensTube**), enquanto adiciona as gotas.

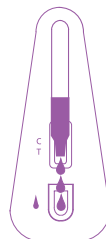


5. Misture totalmente a amostra ou o controlo, e analise conforme é indicado abaixo:
 - a. Para as amostras:
 1. Misture completamente a amostra no vortex ou manualmente. Não centrifugue.
 2. Pipete 250 µL de amostra para o **DispensTube**.



- b. Para os controlos:
 1. Misture suavemente os frascos de Controlo + e Controlo –.
 2. Adicione 6 gotas de Controlo + ao **DispensTube** adequado.
 3. Adicione 6 gotas de Controlo – ao **DispensTube** adequado.
6. Introduza uma ponta **DispensTube** em cada um dos **DispensTube**.
NOTA: Não utilize pontas de outros produtos Directigen.
7. Misture totalmente a amostra no vortex ou manualmente.
8. Inverta o **DispensTube**; segure na metade superior do tubo, longe da ponta, e aperte o tubo para adicionar cuidadosamente três (3) gotas da amostra extraída ao poço de amostra **BD RSV** correctamente identificado.

NOTA: Se apertar o tubo próximo da ponta, poderá provocar a ejeção da ponta e derramar o conteúdo do tubo.



9. Leia os resultados aos 15 min ou até aos 60 min. Os resultados positivos poderão ser lidos logo aos 5 min, desde que as linhas de teste e de controlo sejam visíveis.
NOTA: Caso se utilize um meio de transporte contendo gelatina, os resultados devem ser lidos aos 15 min. Ver "Limitações do Procedimento."
10. Leia o resultado numa área bem iluminada e registe o resultado do teste.

Controlo de qualidade:

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação locais e/ou nacionais e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas EP12-A¹⁷ e 42 CFR 493.1202 (c)¹⁸ do CLSI (previamente NCCLS), para orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

Cada dispositivo **BD RSV** dispõe de controlos incorporados. As funções do controlo incorporado incluem:

Controlo interno: O aparecimento de uma linha de controlo púrpura avermelhada corresponde a um controlo antigénico interno (controlo interno positivo), que funciona como uma verificação dos reagentes conjugado e anticorpo de captura, bem como uma garantia da ocorrência de um fluxo por capilaridade suficiente. A ausência desta linha indica um teste que não pode ser interpretado.

Controlo da membrana de teste (controlo interno negativo): A superfície da membrana não reactiva que rodeia o controlo interno positivo e linha de teste contrasta com uma reacção positiva, servindo como uma referência de fundo para interpretação da cor da reacção.

Controlos Positivos e Negativos Externos:

Os controlos líquidos positivo (Controlo +) e negativo (Controlo -) são igualmente fornecidos com cada kit. Estes controlos são fornecidos como um meio adicional de controlo de qualidade para demonstrar uma reacção positiva ou negativa. Os controlos externos deverão ser processados como um procedimento de controlo de qualidade para cada novo lote ou remessa recebida. A formação da linha púrpura avermelhada na janela de leitura adjacente ao "T", quando o Controlo + é utilizado, confirma que a propriedade da membrana de ligação ao antigénio RSV está a funcionar. Não efectue o relatório dos resultados se o Controlo + ou o Controlo - não produzirem os resultados apropriados.

Os controlos líquidos podem ser igualmente utilizados para demonstrar uma reacção positiva fraca. Uma reacção positiva mais fraca poderá ser demonstrada através da diluição do Controlo + e do Controlo - em simultâneo, dentro do mesmo **DispensTube** (3 gotas de Controlo + e 3 gotas de Controlo -).

Se os resultados esperados para os controlos não forem obtidos, não efectue o relatório dos resultados do doente. Contacte o seu representante local da BD ou os Serviços de Assistência Técnica para obter assistência.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



Teste positivo (antigénio presente) – Aparece uma linha púrpura avermelhada visível na janela de leitura adjacente a Teste "T" e outra linha púrpura avermelhada próxima a Controlo "C". Isto indica que o antigénio RSV foi detectado na amostra. A área de fundo deverá apresentar uma cor branca a rosa claro.



Teste negativo (não foi detectado antigénio) – Não é visível uma linha púrpura avermelhada adjacente a Teste ("T"). Isto indica que o antigénio RSV não foi detectável na amostra. Uma linha púrpura avermelhada adjacente a Controlo ("C") indica um desempenho correcto do procedimento de teste e dos reagentes. A área de fundo deverá apresentar uma cor branca a rosa claro.



não interpretável

Teste não interpretável - Se existir uma linha púrpura avermelhada adjacente a "C" ou se a cor de fundo interferir com a interpretação da linha de teste ou de controlo, o teste não pode ser interpretado. Estes testes têm de ser repetidos. Deve ser obtida uma nova amostra, com repetição dos testes, ou a amostra deve ser enviada para o laboratório clínico para isolamento da cultura.

RELATÓRIOS DOS RESULTADOS

Positivo Positivo para a presença do antigénio RSV. Um resultado positivo pode ocorrer na ausência de vírus viáveis.

Negativo Negativo para a presença do antigénio RSV. A infecção pelo RSV não pode ser excluída, uma vez que o antigénio existente na amostra pode situar-se abaixo do limite de detecção do teste. É recomendada a confirmação das amostras negativas através da cultura em células.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. O teste **Directigen EZ RSV** tem capacidade para detectar partículas de RSV viáveis e não viáveis. O desempenho do teste **Directigen EZ RSV** depende da carga de antigénio e pode não apresentar correlação com a cultura em tecidos efectuada na mesma amostra. Este teste não permite estabelecer a etiologia de infecções respiratórias provocadas por outros microrganismos além do vírus sincicial respiratório.

2. A colheita de amostras inadequada, o manuseamento/transporte incorrectos da amostra ou baixos níveis de eliminação do vírus poderão produzir um resultado falso negativo. De igual forma, um resultado negativo não elimina a possibilidade de infecção pelo RSV. Tal como com todos os procedimentos de diagnóstico, os resultados obtidos com o teste **Directigen EZ RSV** deverão ser utilizados em conjunto com outras informações clínicas que o médico possua.
3. Nos imunoenaios cromatográficos, as linhas pouco visíveis são mais provavelmente resultados falsos positivos do que as linhas francamente visíveis. Tal como com todos os procedimentos de diagnóstico, os resultados obtidos com o teste **Directigen EZ RSV** deverão ser utilizados em conjunto com outras informações clínicas que o médico possua.
4. A validade do teste **Directigen EZ RSV** não foi provada para a identificação/confirmação de isolados de cultura em tecidos, pelo que o teste não deve ser utilizado para este fim.
5. O conteúdo do meio de transporte usado deve ser revisto cuidadosamente para determinar se possui ou não gelatina. Caso se utilize um meio de transporte contendo gelatina, os resultados devem ser lidos aos 15 min. Prolongar o momento de leitura para além dos 15 min pode dar origem ao aparecimento de linhas ténues na posição de teste (T) da janela de leitura.
6. O meio Amies Gel **CultureSwab Plus** não é compatível com o teste **Directigen EZ RSV**. A conservação das amostras neste meio ao longo do tempo poderá produzir um resultado falso negativo.
7. Não foi estudada a reactividade cruzada deste ensaio com o metapneumovirus humano.
8. Os anticorpos monoclonais poderão não detectar todas as variantes antigénicas ou as novas estirpes de RSV.
9. O teste **Directigen EZ RSV** não foi avaliado num número suficiente de amostras do tracto respiratório inferior, zaragatoas da região nasal inferior, zaragatoas do nariz/garganta e zaragatoas faríngeas, para determinar as características de desempenho com estes tipos de amostras.

VALORES ESPERADOS

O grau de positividade observado no teste RSV é variável, dependendo do método de colheita de amostras, sistema de manipulação/transporte utilizado, método de detecção utilizado, altura do ano, idade do doente, localização geográfica e, mais importante, prevalência local da doença. A prevalência observada com as culturas, durante o estudo clínico, variou entre 4,2% e 46,5%.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

As características do desempenho do teste **Directigen EZ RSV** foram estabelecidas num estudo multicêntrico realizado em sete centros clínicos, durante a estação do RSV de 2001-2002. Os centros clínicos localizam-se no Canadá e em diferentes áreas geográficas dos Estados Unidos da América.

Todas as amostras foram colhidas e transportadas para o laboratório de acordo com o procedimento utilizado por cada um dos laboratórios. Cada amostra foi avaliada com o teste **Directigen EZ RSV**, por cultura celular e com um método de rotina laboratorial (ou seja, DFA, EIA). Qualquer amostra restante foi conservada a uma temperatura igual ou inferior a -20°C.

Para a cultura em células, uma parte da amostra foi inoculada em linhagens celulares apropriadas para a cultura de vírus respiratórios, de acordo com o procedimento de cada um dos laboratórios. As células foram examinadas relativamente ao aparecimento de efeitos citopáticos (CPE). A presença de RSV nas células infectadas foi confirmada por imunofluorescência. As amostras que não apresentaram CPE após catorze dias foram coradas para obter a confirmação do resultado negativo através de uma coloração imunofluorescente específica da espécie.

Foram avaliadas com o teste **Directigen EZ RSV** 1176 amostras constituídas por lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, zaragatoas nasofaríngeas e zaragatoas/lavados nasofaríngeos colhidas em doentes com suspeita de infecção pelo RSV.

Desempenho clínico: Para todas as amostras avaliadas, a sensibilidade e a especificidade globais do teste **Directigen EZ RSV** para o RSV, quando comparado com a cultura em células, foi de 80% e 91%, respectivamente. A taxa global de resultados não interpretáveis foi de 0%.

As características do desempenho do **Directigen EZ RSV**, em comparação com a cultura em células, para cada tipo de amostra, são apresentadas no Quadro 1. As características do desempenho, em comparação com a cultura em células, para local clínico, são apresentadas no Quadro 2.

Quadro 1: Resumo do desempenho do teste Directigen EZ RSV (EZ) em comparação com a cultura em células, para todos os tipos de amostras

Tipo de amostra	n	Cultura/EZ				Sensibilidade (%) (IC 95%)	Especificidade (%) (IC 95%)
		+/+	-/+ ^a	+/-	-/-		
Lavado nasofaríngeo (NPW)	348	129	29	19	171	87,2 (80,7–92,1)	85,5 (79,8–90,1)
Aspirado nasofaríngeo (NPA)	401	90	24	27	260	76,9 (68,2–84,2)	91,6 (87,7–94,5)
Zaragatoa/lavado nasofaríngeo (NPSW)	160	28	6	11	115	71,8 (55,1–85,0)	95,0 (89,7–98,2)
Zaragatoa nasofaríngea (NPS)	267	20	20	10	217	66,7 (47,2–82,7)	91,6 (87,3–94,8)

(+) = RSV positivo (-) = RSV negativo

^a O método de PCR utilizado para testar os casos com cultura negativa mas com **Directigen EZ** RSV positivo não foi aprovado pela FDA.

79 amostras com resultados negativos em cultura obtiveram um resultado positivo no teste **Directigen EZ RSV**. O teste da PCR foi realizado em 73 das 79 amostras; um total de 46 das 73 amostras obteve um resultado positivo com a PCR.

Quadro 2: Resumo do desempenho do teste Directigen EZ RSV (EZ) em comparação com a cultura, por local clínico

Local	Tipo de amostra	n	Cultura/EZ				Sensibilidade (%) (IC 95%)	Especificidade (%) (IC 95%)
			+/+	-/+	+/-	-/-		
Local 1	50% NPW 45% NPA 5% NPS	38	11	2	0	25	100 (71,5–100)	92,6 (83,8–99,4)
Local 2	100%	173	56	18	15	84	78,9 (67,6–87,7)	82,4 (73,6–89,2)
Local 3	59% NPA 37% NPW 4% NPS	195	79	24	13	79	85,9 (77,1–92,3)	76,7 (67,3–84,5)
Local 4	100%	207	4	17	5	181	44,4 (13,7–78,8)	91,4 (86,6–94,9)
Local 5	73% NPSW 24% NPS 2% NPW 1% NPA	219	46	8	15	150	75,4 (62,7–85,5)	94,9 (90,3–97,8)
Local 6	100% NPW	77	31	0	3	43	91,2 (76,3–98,1)	100 (91,8–100)
Local 7	100% NPA	267	40	10	16	201	71,4 (57,8–82,7)	95,3 (91,5–97,7)

(+) = RSV positivo (-) = RSV negativo

Os resultados positivos do **Directigen EZ RSV** distribuíram-se ao longo do intervalo entre uma linha pouco visível e uma linha francamente visível. Das 70 amostras positivas para o **Directigen EZ RSV** com linhas pouco visíveis, 39 apresentaram culturas positivas, tendo um total de 58 apresentado resultados positivos em um ou mais métodos (ou seja, cultura, DFA, EIA, ou PCR^a). Das 170 amostras positivas para o **Directigen EZ RSV** com linhas visíveis, 130 apresentaram culturas positivas, tendo um total de 166 apresentado resultados positivos em um ou mais métodos (ou seja, cultura, DFA, EIA, ou PCR^a). Das 106 amostras positivas para o **Directigen EZ RSV** com linhas francamente visíveis, 98 apresentaram culturas positivas, tendo um total de 106 apresentado resultados positivos em um ou mais métodos (ou seja, cultura, DFA, EIA, ou PCR^a).

^a O método de PCR utilizado para testar os casos com cultura negativa mas com **Directigen EZ** RSV positivo não foi aprovado pela FDA.

Reprodutibilidade: A reprodutibilidade do teste **Directigen EZ RSV** foi avaliada em três locais. O painel de reprodutibilidade era composto por 12 amostras de RSV simuladas, incluindo quatro replicados de um nível positivo fraco (próximo do Limite de Detecção [LOD]) e quatro replicados de um nível positivo moderado do antígeno RSV, semeados no diluente do controlo negativo. O painel incluiu igualmente quatro amostras negativas de RSV simuladas, constituídas pelo diluente do controlo negativo não semeado. A taxa de reprodutibilidade global do teste **Directigen RSV EZ** foi de 99,1%.

ESTUDOS ANALÍTICOS

Sensibilidade analítica (limite de detecção)

O limite de detecção (LOD) para o teste **Directigen EZ RSV** foi estabelecido para um total de cinco estirpes de RSV: duas estirpes de RSV A e três estirpes de RSV B.

Tipo	Estirpe viral RSV	LOD (TCID ₅₀)*
A	RSV (Long)	3,95 x 10 ³
A	RSV (A-2)	7,9 x 10 ³
B	RSV (9320)	4,05 x 10 ²
B	RSV (Washington)	7,03 x 10 ³
B	RSV (Tipo selvagem)	5,56 x 10 ²

* TCID₅₀ = Dose infecciosa na cultura em tecidos com a qual 50% das células são lisadas.

Especificidade analítica

O teste **Directigen EZ RSV** foi avaliado utilizando um total de 99 microorganismos (58 bactérias, 2 leveduras e 39 vírus). As bactérias e leveduras foram testadas nas concentrações de 10⁸ UFC/mL. O *Mycoplasma orale* foi testado numa concentração >10⁷ UFC/mL. O *Mycoplasma pneumoniae* foi testado numa concentração >10⁶ UAC/mL (UAC – unidades de alteração de cor). O *Mycobacterium tuberculosis* foi testado na concentração de 7,0 x 10⁶ UFC/mL. Os isolados virais foram testados em títulos entre 10^{3,5} a 10^{9,5} TCID₅₀/0,20 mL. Os vírus influenza foram testados em títulos de 10^{3,5} a 10^{9,5} CEID₅₀**/0,20 mL. Nenhum dos microorganismos listados apresentou um resultado positivo no teste **Directigen EZ RSV**.

**CEID₅₀ = Dose infecciosa do embrião de galinha, em que 50% dos embriões são infectados.

Painel de bactérias e fungos

<i>Acinetobacter baumannii</i> (<i>calcoeticus</i>)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subespécie <i>minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> - Cowan
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II Grupo D
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> Grupo A
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Grupo B
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Grupo C
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Grupo F
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Grupo G
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Prevotella oralis</i>	
<i>Kingella kingae</i>		

Painel viral

Adenovirus, Tipo 3	Influenza B/GL/1739/54
Adenovirus, Tipo 5	Influenza B/Hong Kong/5/72
Adenovirus, Tipo 7	Influenza B/Lee/40
Adenovirus, Tipo 10	Influenza B/Allen/45
Adenovirus, Tipo 18	Influenza B/Maryland/1/59
Coronavirus	Influenza B/Taiwan/2/62
Coxsackievirus Tipo A9 (Griggs)	Influenza C/Taylor/1233/47
Coxsackievirus Tipo A9 (P.B. Bozek)	Vírus do sarampo
Coxsackievirus Tipo B5	Vírus da parotidite
Coxsackievirus Tipo B6	Parainfluenza Tipo 1
Coxsackievirus Tipo A21	Parainfluenza Tipo 2
Cytomegalovirus	Parainfluenza Tipo 3
Echovirus Tipo 2	Rhinovirus tipo 1A
Echovirus Tipo 3	Rhinovirus Tipo 2
Echovirus Tipo 6	Rhinovirus Tipo 13
Echovirus tipo 11	Rhinovirus Tipo 15
Herpes Simplex Vírus Tipo 1	Rhinovirus Tipo 16
Herpes Simplex Vírus Tipo 2	Rhinovirus Tipo 37
Influenza A (H1N1)	Varicella-Zoster Vírus
Influenza A (H3N2)	

Substâncias interferentes

Foram testadas várias substâncias no teste **Directigen** EZ RSV, incluindo sangue total a 2%, fármacos de venda livre (OTC) e fármacos sujeitos a receita médica. Nos níveis testados, não foram detectadas interferências em relação a nenhuma substância.

Medicamentos de venda livre (OTC)

Três lavagens orais com medicamentos OTC a 25%
Três gotas para orofaringe a 25% de venda livre
Três aplicações de spray nasal a 10% de venda livre
4-Acetamidofenol a 10 mg/mL
Ácido acetilsalicílico a 20 mg/mL
Maleato de clorfeniramina a 5 mg/mL
Dextrometorfano a 10 mg/mL

HCl de difenidramina a 5 mg/mL
HCl de pseudoefedrina a 20 mg/mL
Éter gliceril guaiacol a 20 mg/mL
Ibuprofeno a 10 mg/mL
Oximetazolina a 0,05 mg/mL
Fenilefrina a 1 mg/mL

Medicamentos com receita médica

Zanamavir a 1 mg/mL
Amantadina a 500 mg/mL
Rimantadina a 500 mg/mL

Ribavirina a 500 mg/mL
Synagis a 0,1 mg/mL
Sulfato de albuterol a 0,083 mg/mL

APRESENTAÇÃO

Cat. N°	Descrição
256030	Kit de 30 testes Directigen EZ RSV
220115	BBL CultureSwab Sterile Single Swab (zaragatoa única estéril), caixa de 100
220131	BBL CultureSwab Liquid Amies, fio de alumínio flexível, caixa de of 50
220134	BBL CultureSwab Liquid Stuart, fio de alumínio flexível, caixa de of 50
220220	BD Universal Viral Transport, frasco de 3 mL, caixa de 50
220250	Regular Flocked Swab, zaragatoa única estéril, caixa de 100
220251	Minitip Flocked Swab, zaragatoa única estéril, caixa de 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, zaragatoa única estéril, caixa de 100

BIBLIOGRAFIA : Consulte "References" no texto em Inglês.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Importado e Distribuído no Brasil por:
Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda
Rua Cyro Correia Pereira 550, Curitiba – Paraná-Brasil
CNPJ 21.551.379/0013-31
Serviço de Suporte Técnico (11) 5185-9961
Registro ANVISA nº 10033430396
Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555 654

BD Directigen EZ RSV

Para la detección directa del virus sincitial respiratorio (VSR)

Español

USO PREVISTO

El análisis **Directigen EZ RSV** es un inmunoanálisis cromatográfico rápido para la detección directa y cualitativa del antígeno del virus sincitial respiratorio (VSR) en muestras de lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, torundas nasofaríngeas y torundas/lavados nasofaríngeos de pacientes en los que se sospecha una infección respiratoria de etiología viral. Este análisis está diseñado para uso diagnóstico *in vitro* para facilitar el diagnóstico de las infecciones por el virus sincitial respiratorio (VSR) en pacientes neonatales y pediátricos menores de 20 años. Se recomienda confirmar los resultados negativos del análisis con un cultivo celular.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Las infecciones virales de las vías respiratorias son responsables de enfermedad generalizada. El virus sincitial respiratorio (VSR) es una de las principales causas de infección de las vías respiratorias inferiores en niños pequeños durante el invierno¹. También se ha implicado al VSR en infecciones respiratorias graves en ancianos y en pacientes inmunodeprimidos^{2,3}. Más recientemente, se ha identificado al VSR como causa del 20% de los casos de enfermedad seudogripal en personas de 15 a 44 años de edad⁴.

Los métodos tradicionales para la detección de los virus respiratorios han sido el cultivo celular y el análisis de anticuerpos por fluorescencia directa (DFA)⁵⁻⁷. Más recientemente se ha demostrado la utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de virus respiratorios, incluido el VSR⁸. Se dispone del enzimoanálisis (EIA) y de sistemas manuales rápidos para virus específicos como los virus de la gripe A y B y el VSR. Las pruebas rápidas permiten un diagnóstico precoz, lo cual posibilita el aislamiento y el tratamiento apropiados de los pacientes para prevenir la diseminación intrahospitalaria de infecciones a pacientes con alteración de las funciones cardíaca, respiratoria o inmunológica⁹. Además, las pruebas rápidas facilitan la elección del tratamiento antirretroviral adecuado.

Las muestras recogidas con mayor frecuencia para el análisis del VSR son los lavados nasofaríngeos, los aspirados nasofaríngeos y las torundas nasofaríngeas. Se ha demostrado que las muestras de lavados y aspirados nasofaríngeos son superiores a las de torundas, por lo que constituyen las muestras de elección¹⁰.

La prueba de detección de antígenos **Directigen EZ RSV** es un análisis cromatográfico para detectar antígenos del VSR en diversas muestras de pacientes con síntomas. La velocidad y el rendimiento del análisis **Directigen EZ RSV** permiten su aplicación como prueba de urgencia para la detección de antígenos del VSR, ya que proporciona información rápida relevante para la intervención antiviral y para otras decisiones clínicas o de soporte.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El análisis **Directigen EZ RSV** es un análisis cromatográfico para detectar cualitativamente antígenos del VSR en muestras respiratorias. Al añadir las muestras recogidas al dispositivo de análisis, los antígenos A y/o B del VSR se unen al conjugado anticuerpo-oro coloidal de la tira reactiva y forman un complejo antígeno-anticuerpo. Este complejo se desplaza a través de la tira reactiva hasta el área de reacción y es atrapado por la línea de anticuerpo anti-VSR de la membrana. El conjugado sobrante se une a una segunda línea constituida por antígeno del VSR desactivado que sirve como control funcional. Un resultado positivo se indica por la aparición de dos líneas de color morado rojizo en la ventana de lectura, una junto a la "T" (Test, análisis) y la otra junto a la "C" (Control). La ausencia de una línea de color morado rojizo junto a la "T" y la presencia de una línea de color morado rojizo junto a la "C" indican un resultado negativo. El análisis se considera no interpretable si no hay una línea morada rojiza visible junto a la "C".

REACTIVOS

El kit **Directigen EZ RSV** contiene los siguientes reactivos:

Dispositivos BD RSV	30	Cada dispositivo contiene una línea de control de antígeno del VSR desactivado y una línea de análisis de anticuerpos monoclonales anti-VSR en la membrana.
Reactivo E de extracción	4,0 mL	Reactivo de extracción, agente mucolítico y detergente, con azida sódica al 0,2% (conservante).
Control +	2,0 mL	Control positivo, células infectadas con el VSR y tratadas con detergente, con azida sódica al 0,1% (conservante).
Control –	4,0 mL	Control negativo, células no infectadas tratadas con detergente, con azida sódica al 0,1% (conservante).
Tubos DispensTube	30	Tubos para la recogida y transferencia de muestras al dispositivo.
Puntas DispensTube	30	Puntas para filtrar las muestras al transferirlas al dispositivo.

Materiales necesarios no suministrados: Pipeta (con una capacidad de dispensación de 250 µL), reloj, mezclador tipo Vortex y medios de transporte (véase el apartado “Recogida y manipulación de las muestras”).

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1. El reactivo de control positivo del VSR y la línea de control del dispositivo **BD RSV** han sido preparados a partir de células infectadas con el VSR en cultivo tisular que han sido desactivadas mediante tratamiento con un detergente y sonicación y posteriormente analizadas mediante procedimientos bioanalíticos.
2. No utilizar el kit si los controles positivo y negativo no producen los resultados adecuados.
3. En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las “Precauciones estándar”¹¹⁻¹⁴ y las directrices del centro.
4. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad.
5. NO mezclar reactivos de kits que tengan diferentes números de lote. No reutilizar el dispositivo.
6. Los reactivos contienen azida sódica, que es nociva por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavarla inmediatamente con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre formando azidas metálicas muy explosivas. Al desechar el material, utilizar un gran volumen de agua para evitar el depósito de azidas.

Conservación y manipulación: Los kits pueden conservarse a una temperatura de 2 °C a 30 °C. NO CONGELAR. Los reactivos y los dispositivos **BD RSV** deben estar a temperatura ambiente (15 °C–30 °C) al utilizarlos para el análisis.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Transporte y conservación de las muestras: Transportar muestras recién recogidas al laboratorio con la mayor rapidez posible en un sistema de transporte de líquidos adecuado. Procesar las muestras lo antes posible después de su recogida. En caso necesario, las muestras pueden conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante un máximo de 72 h o a –20 °C durante un máximo de siete días después de su recogida.

Es esencial seguir los métodos correctos de recogida y preparación de las muestras. No centrifugar las muestras antes de su uso con el análisis **Directigen EZ RSV**, ya que la eliminación del material celular afectará adversamente a la sensibilidad del análisis.

Medios de transporte: Se han evaluado y se ha demostrado que son compatibles con el análisis **Directigen EZ RSV** los siguientes medios de transporte:

Solución salina fisiológica	Caldo de soja Trypticase + gelatina al 0,5%*
Solución salina tamponada con fosfato (PBS)	Caldo de soja Trypticase + BSA al 0,5%
PBS + gelatina al 0,5%*	Medio esencial mínimo de Earle (EMEM)
PBS + seroalbúmina	EMEM + BSA al 0,5%
bovina (BSA) al 0,5%	EMEM + BSA al 1%
Caldo de infusión de ternera (VIB)	EMEM + hidrolizado de lactoalbúmina al 0,5%
VIB + BSA al 0,5%	EMEM + hidrolizado de lactoalbúmina al 1,0%
Solución salina equilibrada de Hank	Medio de Stuart modificado (líquido) CultureSwab
Medios M4*	Medio de Amies (líquido) CultureSwab
Medios M4-RT*	Starplex Multitrans*
Medios M5	Medio universal de transporte de virus BD*
Medios Bartels ViraTrans	
Fosfato de sucrosa (2-SP)	

*El medio contiene gelatina.

Recogida y preparación de las muestras: Se ha demostrado que las muestras de lavados y aspirados nasofaríngeos son superiores a las de torundas nasofaríngeas, por lo que constituyen las muestras de elección^{9,10}. Las muestras aceptables para el análisis con **Directigen EZ RSV** son las muestras de lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, torundas nasofaríngeas y torundas/lavados nasofaríngeos.

NOTA: Para las muestras de torundas nasofaríngeas se recomienda usar torundas con cabeza de rayón o de poliéster con guía de aluminio. En estudios analíticos internos, se han testado las torundas con punta de terciopelo, que han demostrado ser compatibles con la prueba **Directigen EZ RSV**.¹⁵ Las torundas con punta de alginato cálcico no son adecuadas para la recogida de muestras virales.¹⁶

Procedimiento para muestras de lavados nasofaríngeos y torundas/lavados nasofaríngeos:

1. Se recomienda usar volúmenes de muestras de 2 mL a 3 mL.
2. Deben evitarse los volúmenes de lavado excesivos, ya que podrían causar una disminución de la sensibilidad.
3. Procesar la muestra tal como se describe en el apartado "Procedimiento de análisis".

Procedimientos para las muestras de torundas nasofaríngeas:

1. Las muestras de torundas pueden añadirse a un volumen de 350 µL a 2 mL de medio de transporte.
2. Agitar en un mezclador tipo Vortex la torunda y el medio de transporte.
3. Eliminar de la torunda la mayor cantidad de líquido que sea posible.
NOTA: También puede dejarse la torunda en el tubo.
4. Desechar la torunda en un recipiente apropiado.
5. Procesar la muestra tal como se describe en el apartado "Procedimiento de análisis".

Procedimientos para las muestras de aspirados nasofaríngeos:

1. Las muestras pueden dispersarse en un volumen de 1 mL a 3 mL de medio de transporte o solución salina antes de su procesamiento.
2. Procesar la muestra tal como se describe en el apartado "Procedimiento de análisis".

PROCEDIMIENTO

Procedimiento de análisis

NOTAS:

- Los reactivos, las muestras y los dispositivos **BD RSV** deben estar a temperatura ambiente (15 °C–30 °C) al utilizarlos para el análisis.
- Mezclar a conciencia todas las muestras antes de extraer una parte alícuota. No centrifugar las muestras antes de su uso con el análisis **Directigen EZ RSV**, ya que la eliminación del material celular afectará adversamente a la sensibilidad del análisis.
- Para garantizar una transferencia apropiada, los tubos **DispensTube** y los frascos de reactivos deben mantenerse en posición vertical (aproximadamente a 2,5 cm del pocillo de muestras del dispositivo **BD RSV** o del tubo **DispensTube**) mientras se transfiere el contenido de gota en gota, de forma rápida.

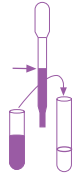
1. Extraer un dispositivo **BD RSV** de su envase justo antes de su uso.
2. Etiquetar un dispositivo **BD RSV** y un tubo **DispensTube** para el control o la muestra que se va a analizar.
3. Colocar el tubo **DispensTube** etiquetado en el área de la estación de trabajo o la gradilla asignada.
4. Mezclar suavemente mediante inversión el reactivo E de extracción. Dispensar tres gotas en el tubo **DispensTube**. Mantener el frasco del reactivo en posición vertical (aproximadamente a 2,5 cm del tubo **DispensTube**) mientras se dispensan las gotas.



5. Mezclar a conciencia la muestra o control y procesarlo tal como se describe a continuación:

a. Para las muestras:

1. Agitar en el mezclador tipo Vortex o mezclar a conciencia la muestra. No centrifugar.
2. Pipetear 250 µL de muestra en el tubo **DispensTube**.



b. Para los controles:

1. Mezclar suavemente los viales de control positivo y de control negativo.
2. Añadir seis gotas de control positivo al tubo **DispensTube** correspondiente.
3. Añadir seis gotas de control negativo al tubo **DispensTube** correspondiente.

6. Insertar una punta **DispensTube** en cada tubo **DispensTube**.

NOTA: No utilizar puntas de otros productos Directigen.

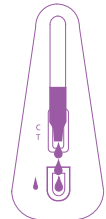
7. Agitar en el mezclador tipo Vortex o mezclar a conciencia.

8. Invertir el tubo **DispensTube** y, sujetándolo por la mitad superior lejos de la punta, presionar para dispensar suavemente tres gotas de la muestra extraída en el pocillo de muestras **BD RSV** que tenga la etiqueta correspondiente.

NOTA: Si se presiona el tubo cerca de la punta, ésta puede soltarse y puede producirse el escape del contenido del tubo.

9. Leer los resultados a los 15 min o hasta un máximo de 60 min. Los resultados positivos pueden informarse ya a los 5 min siempre que las líneas de análisis y de control estén visibles.

NOTA: Si se usa un medio de transporte con gelatina, los resultados se deben leer a los 15 min. Véase "Limitaciones del procedimiento".



10. Leer el resultado del análisis en un área bien iluminada y anotarlo.

Control de calidad:

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar la norma EP12-A17 del CLSI (antes NCCLS) y la norma 42 CFR 493.1202 (c)¹⁸ como guía para las prácticas de control de calidad adecuadas.

Cada dispositivo **BD RSV** contiene controles incorporados. Las características de control incorporadas son:

Control interno: la aparición de una línea de control de color morado rojizo proporciona un control antigénico interno (control interno positivo) que sirve como comprobación del reactivo para el conjugado y el anticuerpo de captura, así como garantía de que el flujo capilar ha sido suficiente. La ausencia de esta línea indica un análisis no interpretable.

Control de la membrana de análisis (control interno negativo): la superficie de la membrana no reactiva situada alrededor del control interno positivo y las líneas de análisis contrastan con una reacción positiva y, por tanto, sirven como referencia basal para la interpretación del color de la reacción.

Controles positivo y negativo externos:

Con cada kit también se suministran controles líquidos positivo (Control +) y negativo (Control -). Estos controles se proporcionan como medio de control de calidad adicional para demostrar una reacción positiva o negativa. Los controles externos deben analizarse como procedimiento de control de calidad para cada lote nuevo o envío recibido. La formación de la línea de color morado rojizo en la ventana de lectura junto a la "T" cuando se utiliza el control positivo indica que la propiedad de unión del antígeno del VSR de la membrana funciona correctamente. No deben informarse los resultados si los controles positivo o negativo no producen los resultados adecuados.

Los controles líquidos también pueden utilizarse para demostrar una reacción positiva débil. Puede demostrarse una reacción positiva más débil mediante la dilución de los controles positivo y negativo en el mismo tubo **DispensTube** (tres gotas de control positivo y tres gotas de control negativo).

Si no se obtienen los resultados de control esperados, no deben informarse los resultados del paciente. Póngase en contacto con el representante local o el servicio técnico de BD para solicitar asistencia.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



+

Análisis positivo (presencia de antígenos): aparece una línea visible de color morado rojizo en la ventana de lectura junto a la "T" (análisis) y una línea de color morado rojizo junto a la "C" (control). Esto indica que se detectaron antígenos del VSR en la muestra. El área de fondo debe ser de color entre blanco y rosa claro.



Análisis negativo (no se ha detectado antígeno): no se observa una línea de color morado rojizo junto a la "T" (análisis). Esto indica que no se detectaron antígenos del VSR en la muestra. Una línea de color morado rojizo junto a la "C" (control) indica un rendimiento adecuado del procedimiento de análisis y de los reactivos. El área de fondo debe ser de color entre blanco y rosa claro.



no interpretable

Análisis no interpretable: si no aparece una línea de color morado rojizo junto a la "C" (control) o el color de fondo interfiere con la interpretación de la línea de análisis o de control, el análisis no es interpretable. Si el análisis no es interpretable, debe repetirse, debe obtenerse y analizarse una nueva muestra o debe enviarse la muestra al laboratorio clínico para la realización de un aislamiento en cultivo.

INFORME DE RESULTADOS

Positivo Positivo para la presencia de antígeno del VSR. Puede producirse un resultado positivo en ausencia de virus viables.

Negativo Negativo para la presencia de antígeno del VSR. No puede descartarse una infección por VSR ya que la concentración de antígenos de la muestra puede ser inferior al límite de detección de la prueba. Se recomienda confirmar las muestras negativas con un cultivo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El análisis **Directigen EZ RSV** es capaz de detectar partículas del VSR viables y no viables. El rendimiento del análisis **Directigen EZ RSV** depende de la carga antigénica y podría no tener correlación con un cultivo tisular realizado con la misma muestra. Con este análisis no puede determinarse la etiología de las infecciones respiratorias causadas por otros microorganismos distintos del VSR.
2. La recogida inadecuada de la muestra, la manipulación o transporte inapropiados de la muestra y niveles bajos de siembra viral pueden producir un resultado falso negativo. Por consiguiente, un resultado negativo del análisis no excluye la posibilidad de una infección por el VSR. Como con cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados obtenidos con el análisis **Directigen EZ RSV** deben utilizarse junto con otros datos clínicos de los que disponga el médico.
3. En los inmunoensayos cromatográficos, es más probable que sean falsos positivos las líneas débilmente visibles que las líneas intensamente visibles. Como con cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados obtenidos con el análisis **Directigen EZ RSV** deben utilizarse junto con otros datos clínicos de los que disponga el médico.
4. No se ha comprobado la validez del análisis **Directigen EZ RSV** para la identificación o confirmación de cepas aisladas en cultivos tisulares, por lo que no debe utilizarse con esta finalidad.
5. El contenido del medio de transporte empleado debe revisarse con atención para determinar si contiene gelatina o no. Si se usa un medio de transporte con contenido de gelatina, los resultados se deben leer a los 15 min. Si la lectura se realiza después de ese plazo, pueden aparecer líneas poco claras en la posición de análisis (T) de la ventana de lectura.
6. El medio de Amies en gel **CultureSwab Plus** no es compatible con el análisis **Directigen EZ RSV**. La conservación de las muestras en este medio puede causar con el tiempo un resultado falso negativo.
7. No se ha estudiado la reactividad cruzada de este ensayo con el metaneumovirus humano.
8. Los anticuerpos monoclonales pueden no detectar todas las variantes antigénicas o las nuevas cepas del VSR.
9. El análisis **Directigen EZ RSV** no se ha evaluado con un número suficiente de muestras de las vías respiratorias inferiores, torundas nasales inferiores, torundas nasales/faríngeas y torundas faríngeas para estimar las características de rendimiento del análisis con estos tipos de muestras.

VALORES PREVISTOS

La tasa de positividad observada en el análisis del VSR variará en función del método de recogida y del sistema de manipulación y transporte de la muestra, del método de detección empleado, de la época del año, de la edad del paciente, de la ubicación geográfica y, lo más importante, de la prevalencia local de la enfermedad. La prevalencia observada con los cultivos durante el estudio clínico varió entre el 4,2% y el 46,5%.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Las características de rendimiento del análisis **Directigen EZ RSV** se establecieron en un estudio multicéntrico realizado en siete centros clínicos durante la temporada 2001-2002 del VSR. Los centros clínicos estaban ubicados en Canadá y en diversas áreas geográficas de Estados Unidos. Todas las muestras se recogieron y transportaron al laboratorio conforme al procedimiento de cada laboratorio. Cada muestra fue evaluada mediante el análisis **Directigen EZ RSV** y cultivo celular y con el método habitual del laboratorio (es decir, DFA, EIA). La cantidad sobrante de las muestras se guardó a una temperatura igual o inferior a -20 °C.

Para el cultivo celular se inoculó una parte de la muestra en las estirpes celulares apropiadas para cultivo de virus respiratorios conforme al procedimiento de cada laboratorio. Se investigó la aparición de efectos citopáticos en las células. Se confirmó la presencia del VSR en las células infectadas mediante tinción inmunofluorescente. Las muestras sin efectos citopáticos a los 14 días se tiñeron para la confirmación del resultado negativo mediante tinción inmunofluorescente específica de la especie.

Se evaluó con el análisis **Directigen EZ RSV** un total de 1.176 muestras de lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, torundas nasofaríngeas y torundas/lavados nasofaríngeos de pacientes con sospecha de infección por el VSR.

Rendimiento clínico: Para todas las muestras evaluadas, la sensibilidad y la especificidad globales del análisis **Directigen EZ RSV** para el VSR en comparación con el cultivo fueron del 80% y el 91%, respectivamente. La tasa global de resultados no interpretables fue del 0%. En la tabla 1 se muestran las características de rendimiento del análisis **Directigen EZ RSV** en comparación con el cultivo celular para cada tipo de muestra. En la tabla 2 se muestran las características de rendimiento en comparación con el cultivo celular por centro clínico.

Tabla 1. Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ RSV (EZ) en comparación con el cultivo para todos los tipos de muestras.

		Cultivo/EZ					
Tipo de muestra	n	+/+	-/+ ^a	+/-	-/-	Sensibilidad (%) (IC 95%)	Especificidad (%) (IC 95%)
Lavado nasofaríngeo (LNF)	348	129	29	19	171	87,2 (80,7–92,1)	85,5 (79,8–90,1)
Aspirado nasofaríngeo (ANF)	401	90	24	27	260	76,9 (68,2–84,2)	91,6 (87,7–94,5)
Torunda/lavado nasofaríngeo (TLNF)	160	28	6	11	115	71,8 (55,1–85,0)	95,0 (89,7–98,2)
Torunda nasofaríngea (TNF)	267	20	20	10	217	66,7 (47,2–82,7)	91,6 (87,3–94,8)

(+) = VSR-positivo; (-) = VSR-negativo

^a El método de PCR utilizado para analizar las muestras con un resultado positivo en el análisis

Directigen EZ RSV y un cultivo negativo no está aprobado por la FDA.

Setenta y nueve muestras tuvieron un resultado negativo en el cultivo y un resultado positivo en el análisis **Directigen EZ RSV**. Se realizó un análisis de PCR en 73 de las 79 muestras; de ellas, 46 tuvieron un resultado positivo mediante PCR.

Tabla 2. Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ RSV (EZ) en comparación con el cultivo en función del centro clínico.

			Cultivo/EZ					
Centro	Tipo de muestra	n	+/+	-/+	+/-	-/-	Sensibilidad (%) (IC 95%)	Especificidad (%) (IC 95%)
Centro 1	50% LNF 45% ANF 5% TNF	38	11	2	0	25	100 (71,5–100)	92,6 (83,8–99,4)
Centro 2	100% LNF	173	56	18	15	84	78,9 (67,6–87,7)	82,4 (73,6–89,2)
Centro 3	59% ANF 37% LNF 4% TNF	195	79	24	13	79	85,9 (77,1–92,3)	76,7 (67,3–84,5)
Centro 4	100% TNF	207	4	17	5	181	44,4 (13,7–78,8)	91,4 (86,6–94,9)
Centro 5	73% TLNF 24% TNF 2% LNF 1% ANF	219	46	8	15	150	75,4 (62,7–85,5)	94,9 (90,3–97,8)
Centro 6	100% LNF	77	31	0	3	43	91,2 (76,3–98,1)	100 (91,8–100)
Centro 7	100% ANF	267	40	10	16	201	71,4 (57,8–82,7)	95,3 (91,5–97,7)

(+) = VSR-positivo; (-) = VSR-negativo

Los resultados positivos en el análisis **Directigen EZ RSV** se distribuyeron en un intervalo de líneas desde débilmente visibles a intensamente visibles. De las 70 muestras con un resultado positivo en el análisis **Directigen EZ RSV** con líneas débilmente visibles, 39 tuvieron un cultivo positivo y un total de 58 tuvo un resultado positivo con uno o más métodos (es decir, cultivo, DFA, EIA o PCR^a). De las 170 muestras con un resultado positivo en el análisis **Directigen EZ RSV** con líneas visibles, 130 tuvieron un cultivo positivo y un total de 166 tuvo

un resultado positivo con uno o más métodos (es decir, cultivo, DFA, EIA o PCR^a). De las 106 muestras con un resultado positivo en el análisis **Directigen** EZ RSV con líneas intensamente visibles, 98 tuvieron un cultivo positivo y un total de 106 tuvo un resultado positivo con uno o más métodos (es decir, cultivo, DFA, EIA o PCR^a).

^a El método de PCR utilizado para analizar las muestras con un resultado positivo en el análisis **Directigen** EZ RSV y un cultivo negativo no está aprobado por la FDA.

Reproducibilidad: La reproducibilidad del análisis **Directigen** EZ RSV se evaluó en tres centros. El panel de reproducibilidad estaba compuesto por 12 muestras de VSR simuladas e incluía 4 réplicas de un nivel positivo bajo (próximo al límite de detección [LOD]) y 4 réplicas de un nivel positivo moderado de antígeno del VSR sembrado en el diluyente de control negativo. El panel también incluía 4 muestras VSR-negativas simuladas constituidas por el diluyente de control negativo no inoculado. La reproducibilidad global del análisis **Directigen** EZ RSV fue del 99,1%.

Estudios analíticos

Sensibilidad analítica (límite de detección)

Se estableció el límite de detección (LOD) del análisis **Directigen** EZ RSV para un total de 5 cepas de VSR (2 cepas de VSR A y 3 cepas de VSR B).

Tipo	Cepa de VSR	LOD (TCID ₅₀)*
A	VSR (Long)	3,95 x 10 ³
A	VSR (A-2)	7,9 x 10 ³
B	VSR (9320)	4,05 x 10 ²
B	VSR (Washington)	7,03 x 10 ³
B	VSR (tipo natural)	5,56 x 10 ²

* TCID₅₀ = dosis infecciosa en cultivo tisular a la cual se produce la lisis del 50% de las células.

Especificidad analítica

El análisis **Directigen** EZ RSV se evaluó utilizando un total de 99 microorganismos (58 bacterias, 2 levaduras y 39 virus). Las bacterias y levaduras se analizaron a concentraciones de 10⁸ UFC/mL. *Mycoplasma orale* se analizó a una concentración > 10⁷ UFC/mL. *Mycoplasma pneumoniae* se analizó a una concentración > 10⁶ UCC/mL (UCC = unidades con cambio de color). *Mycobacterium tuberculosis* se analizó a una concentración de 7,0 x 10⁶ UFC/mL. Las cepas virales aisladas se analizaron con títulos de entre 10^{3,5} y 10^{9,5} TCID₅₀/0,20 mL. El virus de la gripe se analizó con títulos de entre 10^{3,5} y 10^{9,5} CEID₅₀**/0,20 mL. Ninguno de los microorganismos mencionados tuvo un resultado positivo en el análisis **Directigen** EZ RSV.

** CEID₅₀ = dosis infecciosa en embriones de pollo a la que se infecta el 50% de los embriones.

Panel de bacterias y levaduras

<i>Acinetobacter baumannii</i> (<i>calcoaceticus</i>)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp <i>minnesota</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus aureus-Cowan</i>
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II grupo D
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> grupo A
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus</i> grupo B
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	<i>Streptococcus</i> grupo C
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus</i> grupo F
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus</i> grupo G
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Haemophilus paraprofundus</i>		
<i>Kingella kingae</i>	<i>Prevotella oralis</i>	

Panel de virus

Adenovirus tipo 3	Virus de la gripe B/GL/1739/54
Adenovirus tipo 5	Virus de la gripe B/Hong Kong/5/72
Adenovirus tipo 7	Virus de la gripe B/Lee/40
Adenovirus tipo 10	Virus de la gripe B/Allen/45
Adenovirus tipo 18	Virus de la gripe B/Maryland/1/59
Coronavirus	Virus de la gripe B/Taiwan/2/62
Virus Coxsackie tipo A9 (Griggs)	Virus de la gripe C/Taylor/1233/47
Virus Coxsackie tipo A9 (P.B. Bozek)	Virus del sarampión
Virus Coxsackie tipo B5	Virus de la parotiditis
Virus Coxsackie tipo B6	Parainfluenza tipo 1
Virus Coxsackie tipo A21	Parainfluenza tipo 2
Citomegalovirus	Parainfluenza tipo 3
Virus Echo tipo 2	Rinovirus tipo 1A
Virus Echo tipo 3	Rinovirus tipo 2
Virus Echo tipo 6	Rinovirus tipo 13
Virus Echo tipo 11	Rinovirus tipo 15
Virus del herpes simple tipo 1	Rinovirus tipo 16
Virus del herpes simple tipo 2	Rinovirus tipo 37
Virus de la gripe A (H1N1)	Virus de la varicela-zóster
Virus de la gripe A (H3N2)	

Sustancias interferentes

Se analizaron diversas sustancias con el análisis **Directigen EZ RSV**, incluida sangre al 2%, fármacos de venta sin receta y fármacos de venta con receta. No se observaron interferencias en el análisis para ninguna sustancia a las concentraciones analizadas.

Fármacos de venta sin receta

Tres colutorios orales al 25%	Difenhidramina HCl, 5 mg/mL
Tres caramelos para la garganta al 25%	Seudoefedrina HCl, 20 mg/mL
Tres aerosoles nasales al 10%	Guayacol-gliceril-éter, 20 mg/mL
4-Acetamidofenol, 10 mg/mL	Ibuprofeno, 10 mg/mL
Ácido acetilsalicílico, 20 mg/mL	Oximetazolina, 0,05 mg/mL
Maleato de clorfenamina, 5 mg/mL	Fenilefrina, 1 mg/mL
Dextrometorfanol, 10 mg/mL	

Fármacos de venta con receta

Zanamavir, 1 mg/mL	Ribavirina, 500 ng/mL
Amantadina, 500 ng/mL	Palivizumab, 0,1 mg/mL
Rimantadina, 500 ng/mL	Sulfato de albuterol, 0,083 mg/mL

DISPONIBILIDAD

N.º ref.	Descripción
256030	Kit de 30 análisis Directigen EZ RSV
220115	BBL CultureSwab Sterile Single Swab (torunda individual estéril), caja de 100
220131	BBL CultureSwab Liquid Amies , guía de aluminio flexible, caja de 50
220134	BBL CultureSwab Liquid Stuart , guía de aluminio flexible, caja de 50
220220	BD Universal Viral Transport , frasco de 3 mL, caja de 50
220250	Regular Flocked Swab, torunda individual estéril, caja de 100
220251	Minitip Flocked Swab, torunda individual estéril, caja de 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, torunda individual estéril, caja de 100

REFERENCIAS

Véase la sección "References" en el texto inglés.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvodac



Use by / Spotřebuje do / Användes för / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeikäyntöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použít do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Upotrebiti do

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) /
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) /
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numarasi / Kataloški broj



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Reprezentante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Reprezentante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизиран представител в EU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Avrupa Topluluğu Yetkilii Temsilcisi / Ovlašteni predstavnik u Evropskoj zajednici



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medicinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostic Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenje teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sıcaklık sınırlaması / Ograničenje temperature



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Partii Kodu (Lot) / Kod serije



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contenido suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663



BENEX Limited
Bay K 1 a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

ViraTrans is a trademark of Trinity Biotech, PLC.
Multitrans is a trademark of Starplex Scientific, Inc.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.
©2008 BD.
Made in China by BD.