



## RSV Respi-Strip, RSV-CIT

### Test immunochromatograficzny in vitro do wykrywania RSV w wydzielinie nosowo-gardłowej.

**TYLKO DO UŻYTKU IN VITRO;  
TYLKO DO UŻYWANIA PRZEZ PERSONEL FACHOWY**  
Numer katalogowy: C-1006, 25 testów w opakowaniu  
C-1206 20 testów indywidualnie pakowanych

#### I. WPROWADZENIE

RSV jest główną przyczyną chorób dróg oddechowych u osób w każdym wieku. Wywołuje większość przypadków poważnych infekcji dróg oddechowych u niemowląt, dzieci poniżej 4 roku życia, lecz także stwarza poważne problemy u osób starszych czy poddawanych immunosupresji pacjentów dając wysoki odsetek śmiertelności. Zapalenie płuc i zapalenie oskrzelików to dwie z cięższych infekcji występujących u niemowląt pomiędzy 2 a 6 miesiącem życia. Infekcja u starszych dzieci i dorosłych może mieć łagodny przebieg i jest zazwyczaj samoograniczająca, powodując niedrożność nosa i katar nie wyróżniające się niczym od objawów zwykłego zaziębienia. Każdego roku, do 50% niemowląt jest zainfekowanych RSV. RSV wywołuje około 70% przypadków zapalenia oskrzelików czego rezultatem jest 80-125 tys. hospitalizowanych w USA. Dzieci wymagające hospitalizacji to noworodki oraz te, które cierpią z powodu astmy, zaburzenia pracy płuc czy problemów z sercem. Ponadto, zapalenie oskrzelików wywołane przez RSV w pierwszym roku życia jest jednym z głównych czynników ryzyka dla późniejszego rozwinięcia się astmy.

Jest to wysoce zakaźna choroba przez kontakt z wydzielinami dróg oddechowych. Jest ona także przyczyną zakażeń szpitalnych. RSV atakuje zarówno górne jak i dolne drogi oddechowe, lecz zapalenie płuc i oskrzelików są najczęściej występującą chorobą dolnych dróg oddechowych. Objawy zapalenia oskrzelików to kaszel, świszczący oddech, napad duszności zwiększający szybkość oddechu powyżej 40 na minutę i powodujący występowanie sinienia skóry wokół ust. Występowanie trzeszczenia (tarcia opłucnej) i zaburzenia oddychania są symptomami zapalenia płuc.

#### II. ZASADA METODY

Test ten jest gotowy do użycia i bazuje na zastosowaniu jednolitego immunochromatograficznego systemu z cząsteczkami złota koloidalnego. Nitrocelulozowa membrana uczulona jest przeciwciałem skierowanym przeciwko jednemu z epitopów białka F wirusa RSV. Inne przeciwciało skierowane przeciwko drugiemu z epitopów białka F w połączeniu z cząsteczkami złota koloidalnego tworzy stały koniugat na poliestrowej membranie.

Test ten jest ukierunkowany na wykrywanie wirusa RSV w wydzielinie z nosogardzieli lub supernatantu z kilkudniowej hodowli, założonej by zwiększyć czułość.

Kiedy pasek zostaje zanurzony w roztworze NSP (wydzieliną z nosogardzieli) lub roztworze hodowli, rozpuszczony koniugat wędruje drogą biernej dyfuzji z próbka przez powierzchnię membrany, gdzie wchodzi w kontakt z anty-RSV monoclonalnym przeciwciałem zaadsorbowanym na nitrocelulozie. Jeśli próbka zawiera RSV, to kompleks koniugat-RSV zatrzymuje się w miejscu, w którym na membranie umieszczone jest na stałe swoiste przeciwciało anty RSV.

Rezultat - w postaci czerwonej linii tworzącej się na pasku - pojawia się w ciągu 15 minut. Roztwór kontynuując wędrować, napotyka drugi odczynnik (kontrolny) i wiąże kontrolny koniugat, tworząc w ten sposób drugą czerwoną linię.

#### III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Każdy zestaw zawiera paski testowe i bufor ekstrakcyjny:

##### 1. Paski RSV Respi-Strip

Każdy pasek jest uczulony mysim anty-RSV monoclonalnym przeciwciałem skierowanym przeciwko jednemu z epitopów białka F oraz odczynnikiem kontrolnym. Oczyszczone odczynniki zostały zaadsorbowane na nitrocelulozie. Koniugat anty-RSV został utworzony przez użycie mysiego monoklonalnego przeciwciała skierowanego przeciw drugiemu z epitopów białka F antygeny ludzkiego RSV. Oczyszczone przeciwciało zostało połączone z cząsteczkami złota koloidalnego.

Paski umieszczone są w pojemniku z saszetką pochłaniającą wilgoć.

##### 2. Bufor ekstrakcyjny (15 ml)

Roztwór soli buforowany do pH 7.5, zawierający Na<sub>3</sub>N (<0.1%) oraz detergent.

##### 3. Instrukcję używania (1)

#### 4. Potrzebne materiały (nie dostarczone) :

- 3 lub 5 ml próbki testowe
- sprzęt do obróbki materiału badanego
- statywy

#### Materiały, które zamawia się oddzielnie:

- Kontrola pozytywna RSV (Nr. kat.: C-1086)

#### IV. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności testu muszą być spełnione i wykonane zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną.
- Test RSV Respi-Strip jest przeznaczony tylko do użytku in vitro.
- Należy unikać dotykania obszarów testowych paska.
- Używać rękawiczek w czasie pobierania próbki.
- Powyższe zalecenia są zgodne z DPL.
- Nigdy nie należy używać odczynników pochodzących z różnych zestawów.
- Pojemnik z paskami musi być dokładnie zamknięty po każdym wyjęciu pasków do badania, ze względu na ich podatność na zawilgocenie. Należy się upewnić czy w środku znajduje się saszetka pochłaniająca wilgoć.
- Przy otwieraniu hermetycznych opakowań jednostkowych należy uważać, aby nie uszkodzić paska.
- Dwie zielone linie wyznaczają miejsce adsorpcji przeciwciała. Znikają one w trakcie badania.
- Nie używać buforu gdy jest zanieczyszczony bakteryjnie lub pokryty pleśnią.
- Jakość odczynników nie jest gwarantowana po przekroczeniu ich terminu użytkowania, lub gdy są niewłaściwie przechowywane.

**Aby uniknąć rozcieńczenia koniugatu złota koloidalnego, należy uważać, aby w czasie wykonywania badania nie zamoczyć paska powyżej linii umieszczonej pod brązowymi strzałkami.**

#### V. PRZECHOWYWANIE

Nie używany zestaw RSV Respi-Strip przechowywany w temp. 4 - 37°C, jest trwały do daty ważności podanej na opakowaniu.

Po otwarciu, przechowywany w temp. 4 - 37°C i suchym otoczeniu zachowuje trwałość przez 15 tygodni.

Zestawu RSV Respi-Strip nie wolno zamrażać.

#### VI. PRÓBKİ

Próbki do badania należy pobrać i przygotować standardowymi metodami pozyskiwania NSP (wyłukiwanie lub wymaz). Pasków RSV Respi-Strip nie testowano z użyciem materiału pobranego na podłoże transportowe.

- 1) Próbki z wydzieliną muszą być badane jak najszybciej po ich zebraniu. Jeśli testu nie wykonujemy od razu, próbki można przechować w temp. 2 - 8°C przez 24 godziny, lub przy dłuższym przechowywaniu zamrozić do -20°C. Należy się upewnić, że próbki nie były wcześniej traktowane formaldehydem lub jego pochodnymi.
- 2) Nie zaleca się używania do badania wymazów z nosa. W przypadku użycia takiego materiału CORIS nie gwarantuje odpowiedniej dokładności.
- 3) Zabrania się używania do badania płwociny.

#### VII. WYKONANIE

##### Przygotowanie:

Jeśli zestaw RSV Respi-Strip był przechowywany w temp. 4°C, to należy przed rozpoczęciem badania doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej.

Napisać nazwisko pacjenta lub numer próbki na probówce testowej (zaplanować po jednej probówce na próbkę).

Umieścić oznakowane próbki w statywie.

##### Procedura przygotowania materiału:

Nie ustalono zastrzeżeń proceduralnych dotyczących zastosowania innego materiału niż NPS (wydzieliną z nosogardzieli). Aby uzyskać najwyższą jakość testu, zalecamy stosowanie świeżej NPS.

1. Płynna wydzieliną z nosogardzieli (popłuczyny lub aspirat). Jeżeli badany materiał jest płynny, to w celu uzyskania dwukrotnego rozcieńczenia (1:1), należy zmieszać 0,25ml materiału z 0,25ml (8 kropli) buforu ekstrakcyjnego.
2. Wymaz: Wymaz można przechowywać w probówce z podłożem transportowym lub w pojemniku z podłożem żelowym lub gąbką.
  - a. Jeżeli wymaz jest przechowywany w płynnym podłożu transportowym, należy wycisnąć go poprzez obtarcie jego powierzchni o ścianki próbki. Następnie przygotować roztwór w sposób opisany w punkcie 1.
  - b. Jeżeli wymaz jest przechowywany w innym niż płynne podłożu, to należy przełożyć go do próbki zawierającej minimum 0,5ml soli fizjologicznej lub wody destylowanej, zamieszać i wycisnąć wacik, obcierając go o ścianki próbki. Następnie należy przygotować roztwór w sposób opisany w punkcie 1. Jeżeli jedyną drogą pobrania próbki jest zrobienie wymazu, to zaleca się pobranie 3 wymazów od jednego pacjenta.

- Wymieszać do uzyskania homogennej zawiesiny i inkubować w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
- Zanurzyć uczulony pasek w kierunku wyznaczonym przez strzałki.
- Pozostawić na 15 minut. Wynik należy odczytać na mokrym pasku po 15 minutowej inkubacji.

### VIII. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki interpretowane są następująco:

- 1 linia = test negatywny**  
**2 linie = test pozytywny**  
**Brak linii = test nie może być interpretowany\***

\* Brak górnej linii, która jest linią kontrolną, unieważnia wynik testu. W takim przypadku badanie należy powtórzyć.

Intensywność zabarwienia linii testowej może być proporcjonalna do ilości antygeny w próbce. Nawet najdelikatniejsza linia testowa musi być interpretowana jako wynik dodatni. Jednakże jest to test jakościowy i nie wskazuje na ilość antygeny w próbce. Przy stawianiu diagnozy należy brać pod uwagę objawy kliniczne i wyniki innych testów. Podczas wysychania pasków może pojawić się niewielkie zacienienie na linii testowej. Nie należy go traktować jako wynik dodatni.

W celu przechowania wykonanych testów należy wysuszyć pasek po usunięciu absorbentu.

### IX. KONTROLA JAKOŚCI

#### A. Kontrola Dodatnia

Zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej zalecane jest regularne sprawdzanie jakości testu, odpowiednio do laboratoryjnych wymagań. Do tego celu służy kontrola pozytywna RSV (C-1086), w której paski powinny być zanurzone. Stosować zgodnie z instrukcją dołączoną do kontroli (C-1006).

#### B. Kontrola ujemna

Jako kontrolę ujemną należy używać buforu ekstrakcyjnego rozcieńczonego dwukrotnie (1:1)

### X. CHARAKTERYSTYKA TESTU

#### A. Limit wykrywalności:

Limit wykrywalności zbadano używając oznaczony ilościowo szczep wirusa (RS Virus Stain A-2) i określono na  $3,7 \times 10^5$  vp/ml.

#### B. Czulość – Specyficzność (Korelacja)

1) Czulość i specyficzność testu RSV Respi-Strip była badana w rutynowym laboratorium (Belgia) w odniesieniu do metody hodowli komórkowej. Wyniki tych testów przedstawiają się następująco:

Kultury	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek RSV Respi			
Wyniki pozytywne	153	22	175
Wyniki negatywne	17	308	325
Wyniki końcowe	170	330	500

Czulość: 90% Wyniki Prawdziwie Pozytywne: 87,4%  
 Specyficzność: 93,3% Wyniki Prawdziwie Negatywne: 94,8%  
 Zgodność całkowita: 92,2%

2) Czulość i specyficzność testu RSV Respi-Strip była badana w porównaniu z testem enzymatycznym. Wyniki tych testów przedstawiają się następująco:

Test enzymatyczny	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek RSV Respi			
Wyniki pozytywne	40	0	40
Wyniki negatywne	8	34	42
Wyniki końcowe	48	34	82

Czulość: 83,3% Wyniki Prawdziwie Pozytywne: 100%  
 Specyficzność: 100% Wyniki Prawdziwie Negatywne: 81%  
 Zgodność całkowita: 90,2%

3) Test był sprawdzany w niezależnym centrum naukowym (Kanada) w odniesieniu do DFA z użyciem popluczyn z nosogardzieli

DFA	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek RSV Respi			
Wyniki pozytywne	106	2	108
Wyniki negatywne	9	119	128
Wyniki końcowe	115	121	236

Czulość: 92% Wyniki Prawdziwie Pozytywne: 98%  
 Specyficzność: 98% Wyniki Prawdziwie Negatywne: 93%  
 Zgodność całkowita: 95%

4) Test był sprawdzany w porównaniu z IF z zaaspirowanej wydzieliny z nosa u dzieci poniżej 3 roku życia. Niezgodności były potwierdzane techniką RT-PCR (Francja).

IF	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek RSV Respi			
Wyniki pozytywne	48	0	48
Wyniki negatywne	2	50	52
Wyniki końcowe	50	50	100

Czulość: 96% Wyniki Prawdziwie Pozytywne: 100%  
 Specyficzność: 100% Wyniki Prawdziwie Negatywne: 96%  
 Zgodność całkowita: 98%

#### C. Precyzja:

W celu zbadania precyzji wewnątrz seryjnej, dodatnią próbkę i bufor ekstrakcyjny przebadano 15rotnie z użyciem pasków o tym samym numerze serii i w tych samych warunkach eksperymentu. Wszystkie wyniki były prawidłowe i zgodne z przewidywaniami.

W celu oceny precyzji między seriami kilka dodatnich próbek (materiał i bufor) przebadano z zastosowaniem pasków o trzech różnych numerach serii. Wszystkie wyniki były prawidłowe i zgodne z przewidywaniami.

#### D. Interakcje:

Nie stwierdzono reakcji krzyżowych w próbkach zawierających następujące czynniki patogenne:

Adenovirus, HSV, Parainfluenza, Enteroovirus, Influenza A, Influenza B, Rhinovirus, *Nocardia asteroides*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Aspergillus niger*, *Legionella pneumophila*, *Candida albicans*, *Haemophilus influenzae*.

Wykonano również test na reakcję krzyżową ze strony *Staphylococcus aureus* i stwierdzono, że występuje ona przy wysokich stężeniach tej bakterii ( $10^9$  cfu/ml).

### XI. OGRANICZENIA

Wyniki testu RSV Respi-Strip muszą być porównane z innymi dostępnymi klinicznymi i laboratoryjnymi danymi.

Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości obecności innych patogenów. Test RSV Respi-Strip jest skринingowym badaniem ostrej fazy. Próbkę NPS zebrane po tej fazie mogą zawierać antygen w stężeniu poniżej progu wykrywalności testu. Jeśli pomimo występujących objawów uzyskamy negatywny wynik, to należy rozpocząć hodowlę.

### XII. PROBLEMY TECHNICZNE/WYJAŚNIENIA

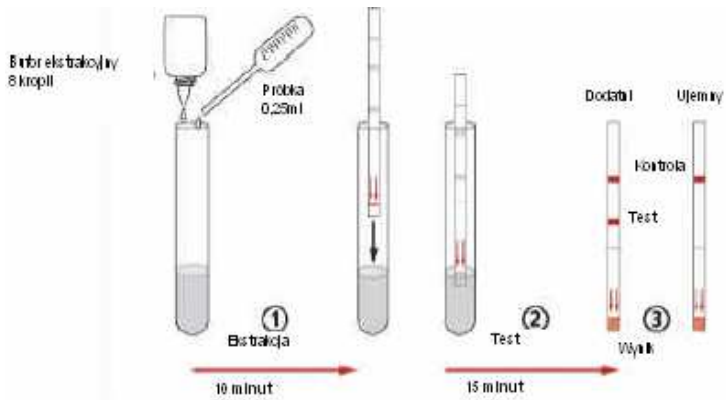
Jeżeli napotkasz problemy techniczne, lub test nie działa zgodnie z opisem zawartym w instrukcji, to:

- Zapisz numer lotu, którego dotyczy problem
- Jeżeli to konieczne, to poprzez zamrożenie zachowaj problematyczne próbki
- Skontaktuj się z Coris BioConcept lub jego lokalnym dystrybutorem.

### XIII. BIBLIOGRAFIA

- Comparison of nasopharyngeal aspirate and nasopharyngeal swab specimens for respiratory syncytial virus diagnosis by cell culture, indirect immunofluorescence assay, and enzyme-linked immunosorbent assay.  
*Ahluwalia, G.J. Embree, P.McNicol, B.Law, and G.W.Hammond*  
*J.Clin.Microbiol.* 257: 763-767, 1987
- Respiratory syncytial virus infection in the elderly.  
*Milinaric-Galinovic G., Falsey AR, Walsh EE*  
*Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1996; 15: 777-781
- Use and Interpretation of Laboratory Tests in Infectious Disease  
*Jame B. Peter, M.D., PhD*  
 Specialty Laboratories, fifth edition, May 1998
- Reliable Detection of Respiratory Syncytial Virus Infection in Children for Adequate Hospital Infection Control Management  
*Susanne Abels, 1,2, David Nadal, 2 Angelika Stroehle, 1 and Walter Bossart1*  
*Journal of Clinical Microbiology*, September 2001, p. 3135-3139, Vol.9, No.9
- Clinical and Financial benefits of Rapid Detection of Respiratory Viruses: an Outcomes Study  
*Joan Barenfanger, Cheryl Drake, Nidia Leon, Tina Mueller, and Tammy Trout*  
*J. Clin. Microbiol.* 2000 38: 2824-2828
- Rapide Detection of Respiratory Viruses by Stel Vial Assai Rusing Simultaneous Culture of Hep-2, LLC-MK2, and MDCK Cells in a Single Vial  
*Jose M.Navarro-Mari, Sara Sanbonmatsu-amez, Mercedes Perez-Ruiz, and Manuel De La Rosa-Frai*  
*J.Clin.Microbiol.* 1999 37: 2346-2347
- Detection of Respiratory Syncytial Virus in samples Frozen at -20°C  
*Guiden Yimaz, Nilgun Isik, Nilgun Kanask, Selim Badur, Ozdem Ang,*  
*J.Clin. Microbiol.* 1999 37: 2390

CE/98/79 registration number: BE/CA02/005/02  
 IFU – 5406/G1/01



REF	Numer kat.		Producent
IVD	do diagn. in vitro		Ograniczenia temperatury
	Wystarcza liczba testów	DIL SPE	Rozciełzanie próbek
	Zawiera instrukcję użytkownika		Nie używać powtarzalnie
	Ochrona przed wilgocią		Złożyć przed
DIL AS	Badanie z rozciełzaniem	CONT NaN3	Zawiera azydki sodu

Wydanie: Grudzień 2007r.  
Aktualizacja PL: 6.08.2008 r.