

RSV K-SeT



www.corisbio.com

IFU-5806/DE/06

Hersteller:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
B – 5032 GEMBLoux
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Hergestellt in BELGIEN

***In vitro-Diagnostik*schnelltest für den Nachweis von Respiratory Syncytial Virus in Nasenrachensekreten**

ZUR IN VITRO ANWENDUNG

NUR FÜR DIE GEWERBLICHE VERWENDUNG

DE

Referenzen: K-1506, 20 Tests pro Kit, mit Probengewinnungsbesteck
K-1206, 20 Tests pro Kit, ohne Probengewinnungsbesteck

I. EINFÜHRUNG

Respiratory Syncytial Virus (RSV) ist die Hauptursache für Erkrankungen der Luftwege in allen Altersgruppen. Er stellt die häufigste Ursache für schwere Infektionen des Respirationstrakts bei Säuglingen und Kindern unter 4 Jahren dar, ist aber auch bei Patienten fortgeschrittenen Alters und immunsupprimierten Patienten für ernste Probleme verantwortlich, die zu hohen Sterberaten führen. Lungenentzündung und Bronchitis sind die beiden häufigsten schweren Infektionen bei Säuglingen im Alter von 2 bis 6 Monaten. Infektionen bei älteren Kindern und Erwachsenen können milder verlaufen, gewöhnlicherweise selbstlimitierend, und verursachen eine verstopfte Nase und Nasensekret, und sind von einer normalen Erkältung nicht zu unterscheiden.

Jedes Jahr werden bis zu 50 % der Säuglinge infiziert. RSV-Erkrankung verursacht etwa 70 % der Bronchiolitisfälle und führt in den USA zu 80.000 bis 125.000 Krankenhausaufnahmen. Zu den Kindern, die eine stationäre Behandlung benötigen, zählen Neugeborene und Kinder, die an Asthma, Lungenerkrankungen oder Herzproblemen leiden. Außerdem ist RSV-Bronchiolitis im ersten Lebensjahr eine der wichtigsten Risikofaktoren für die spätere Entwicklung von Asthma.

Diese Krankheit ist durch Kontakt mit Atemsekreten hoch ansteckend. Sie ist auch eine häufige Ursache von nosokomialen Infektionen, deren Prävalenz sich bei Ausbrüchen in der Gemeinschaft durch zwanglose Kontakte noch erhöht. RSV wirkt sich sowohl auf die oberen als auch auf die unteren Atemwege aus, doch Lungenentzündung und Bronchiolitis sind die am weitesten verbreiteten Erkrankungen der unteren Atemwege. Bronchiolitis wird anhand von Husten, keuchender Atmung und dem Einsetzen von Kurzatmigkeit, einer Erhöhung der Atemfrequenz auf bis zu 40 Atemzüge pro Minute und einer bläulichen Verfärbung der Haut um den Mund herum diagnostiziert. Rasseln im Brustkorb und Atemnot sind häufige Symptome von Lungenentzündung.

II. TESTPRINZIP

Dieser Test ist gebrauchsfertig und basiert auf der Membrantechnologie mit kolloidalen Gold-Nanopartikeln. Eine Nitrozellulosemembran wird mit einem monoklonalen Antikörper sensibilisiert, der gegen ein Epitop des F-Proteins des Respiratory Syncytial Virus gerichtet ist. Ein weiterer gegen das zweite Epitop des F-Proteins gerichteter monoklonaler Antikörper wird mit kolloidalen Goldpartikeln konjugiert. Dieses Konjugat wird auf einer membran getrocknet.

Der Test zielt auf den Nachweis des RSV entweder in Nasenrachensekreten oder im Überstand nach Kultivierung über mehrere Tage zum Erzielen einer besseren Empfindlichkeit ab.

Wenn die Extraktionslösung von NPS (Nasenrachensekret) oder die aus der Kultur extrahierte Lösung mit dem Teststreifen in Kontakt kommt, migriert das aufgeschlossene Konjugat durch passive Diffusion mit der Probe, wobei sowohl das Konjugat als auch das Probenmaterial mit dem Anti-RSV-Antikörper, der auf den Nitrozellulosestreifen adsorbiert ist, in Kontakt kommen. Wenn die Probe RSV enthält, bleibt der Konjugat-RSV-Komplex an den auf die Nitrozellulose adsorbierten Anti-RSV-Antikörper gebunden. Das Ergebnis ist innerhalb von 15 Minuten in Form einer sich auf dem Streifen abzeichnenden roten Linie sichtbar. Die Lösung wandert weiter und trifft auf ein ein Kontrollkonjugat bindendes Kontrollreagens, wodurch eine zweite rote Linie erzeugt wird.

III. REAGENZIEN UND MATERIALIEN

1. RSV K-SeT (20)

20 versiegelte Beutel, die jeweils eine Testvorrichtung und ein Trockenmittel enthalten. Jede Testvorrichtung enthält einen sensibilisierten Teststreifen.

2. Extraktionspuffer (15 mL)

Geputferte Kochsalzlösung (pH 7,5), enthält Borat, NaN₃ (<0,1 %) und ein Detergens.

3. Gebrauchsanleitung (1)

4. Im Lieferumfang von K-1506 enthaltene Materialien

Probengewinnungsmaterial: 20 Abstrichtupfer von Copan Flock (Referenznr. 553C)

Separat zu bestellende Materialien:

- RSV Positivkontrolle (Ref.: C-1086)
- Negativkontrolle (Ref.: CTR-1000)

IV. BESONDERE VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle Arbeitsschritte in Zusammenhang mit dem Gebrauch des Tests sind in Übereinstimmung mit der Guten Laborpraxis (GLP) durchzuführen.
- Alle Reagenzien sind ausschließlich für den Gebrauch in der *In-vitro* Diagnostik bestimmt.
- Die Beutel vorsichtig öffnen.
- Die Nitrozellulose möglichst nicht mit den Fingern berühren.
- Beim Umgang mit Proben Handschuhe tragen.
- Niemals Reagenzien aus einem anderen Kit verwenden.
- Die Adsorptionsstellen der Immunreagenzien sind durch grüne Linien angezeigt. Die grüne Farbe verschwindet während des Tests.
- Die Qualität der Reagenzien kann nicht garantiert werden, wenn diese nach Ablauf ihres Verfalldatums verwendet oder nicht unter den in der Packungsbeilage angegebenen Bedingungen aufbewahrt werden.

V. ABFALLBESEITIGUNG

- Handschuhe, Abstrichtupfer, Teströhrchen und benutzte Vorrichtungen in Übereinstimmung mit der GLP entsorgen.
- Jeder Anwender ist selbst für das Management sämtlichen produzierten Abfalls zuständig und hat dafür zu sorgen, dass die Entsorgung in Übereinstimmung mit geltendem Gesetz erfolgt.

VI. AUFBEWAHRUNG

- Ungeöffnete Beutel können bei 4 °C bis 30 °C aufbewahrt und bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum benutzt werden. Nach dem Öffnen des Beutels den Test so schnell wie möglich durchführen.
- Vorrichtungen und Puffer nicht einfrieren.

VII. HANDHABUNG UND GEWINNUNG VON PROBEN

Die zu testenden Proben sind nach den zur Gewinnung von Nasenrachensekret, Nasenspülungen oder Nasenabstrichen üblichen Standardmethoden zu gewinnen und handzuhaben.¹

Die Proben müssen nach der Gewinnung so bald wie möglich getestet werden. Wenn sie nicht sofort verwendet werden, müssen sie bei 2-8°C aufbewahrt oder, für längere Zeiträume, bei -20°C eingefroren werden, je nachdem, welches Transportmedium verwendet wird. MicroRheologics-Abstrichtupfer mit Copan UTM können vor dem Testen bis zu 72 Stunden lang bei 2-8°C aufbewahrt werden.

Die folgenden Transportmedien sind getestet worden und haben sich als kompatibel mit den Coris BioConcept Atemwegkits erwiesen: M4 und M5 von Remel (Oxoid), Virocult-Medium (MWE), Hank's BSS in Vircell-Medium und RPMI. Stuart-Transportmedium und Amies-Medium sind mit dieser Vorrichtung nicht kompatibel.

Mit Ausnahme der Abstrichtupfer von MicroRheologics (im Lieferumfang von K-1506 enthalten), gelten Nasenabstriche nicht als gute Methode zur Probengewinnung. Coris BioConcept rät daher von der Verwendung anderer Abstrichtupfer als der empfohlenen ab und kann nicht dieselbe Leistung wie bei Anwendung von Nasenrachensekretspülungen oder -aspirat garantieren. Von der Anwendung von Sputum wird eindringlich abgeraten.

Darauf achten, dass die Proben nicht mit Lösungen behandelt sind, die Formaldehyd oder Derivate davon enthalten.

VIII. VORGEHENSWEISE

Testvorbereitungen:

Die Bestandteile des Kits in der ungeöffneten Verpackung und die Proben vor der Durchführung eines Tests Raumtemperatur (15-30°C) annehmen lassen.

Den Beutel öffnen und die Vorrichtung entnehmen. Nach dem Öffnen sofort den Test durchführen. Die Vorrichtung mit dem Namen des Patienten oder der Probennummer beschriften (eine Vorrichtung pro Probe).

Probenvorbereitung:

Die Leistung des Tests mit anderen Probenotypen als Nasenrachensekret wurde nicht untersucht. Für optimale Testleistung empfehlen wir die Verwendung von frischem Nasenrachensekret.

1. Flüssige Nasenrachenspülungen und/oder -aspirate oder Kulturüberstand. Wenn die zu testende Probe flüssig ist, 100 µL mit 100 µL bzw. 4 Tropfen des Extraktionspuffer mischen, um ein Probenverdünnungsverhältnis von 1/2 herzustellen.

2. Abstrichtupfer. Abstrichtupfer können in einem Röhrchen, das ein Transportmedium enthält, in einer Vorrichtung mit einem Gel oder in einer Schwammmatrix aufbewahrt werden. Alternativ können trockene Abstrichtupfer von Copan Flock verwendet werden.

a- Wenn der Abstrichtupfer in einem flüssigen Transportmedium aufbewahrt wird, sollte er in dem Medium ausgestrichen werden, indem seine Matrix an der Röhrchenwand ausgepresst und die resultierende Lösung wie in Punkt 1 beschrieben weiterverarbeitet wird.

b- Vorgehensweisen bei Trockenabstrichtupfern: Wenn kein Verdünnungsmedium zur Verfügung steht, wird der trockene Tupfer in 15 Tropfen bzw. 500 µL Extraktionspuffer getaucht und an der Röhrchenwand ausgepresst. Darauf achten, dass der Abstrichtupfer nicht vor dem Ausdrücken der Probe gegen eine Fläche gedrückt wird, da dies zu einem Verlust von Viren und zu einer Verringerung der Empfindlichkeit führen könnte.

3. Gründlich umrühren, um die Lösung zu homogenisieren

4. 100 µL der verdünnten Probe langsam in die Probenkavität der Vorrichtung pipettieren (vgl. die Abbildung).

¹ Hall, C.B., Douglass, R.G., Jr., and Geiman, M. 1975. Clinically useful method for the isolation of Respiratory Syncytial Virus. *J. Infect. Dis* 131: 1-5.

5. 15 Minuten reagieren lassen. Die Ergebnisse werden im Lesefenster angezeigt. Positive Ergebnisse werden unter Umständen früher erkennbar, d. h. bereits sobald die Test- und Kontrolllinien sichtbar werden.

Nach Ablauf der Reaktionszeit dürfen neu sichtbar werdende Linien nicht mehr berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse müssen auf den noch nassen Streifen abgelesen werden.

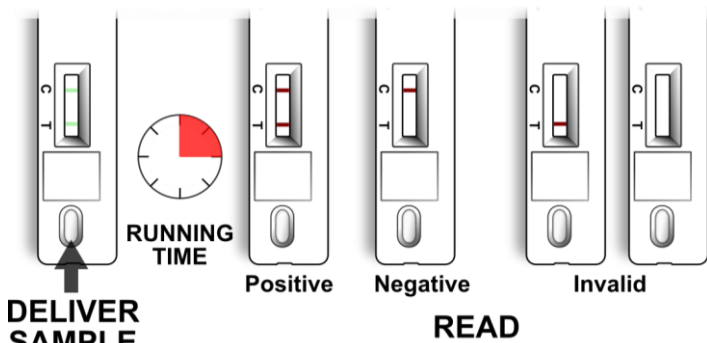
IX. ERGEBNISINTERPRETATION

Die Ergebnisse sind folgenderweise zu interpretieren:

Negatives Testergebnis: Im mittleren Lesefenster erscheint an der Position der Kontrolllinie (C) eine rötlich-violette Linie. Ansonsten ist keine weitere Bande vorhanden.

Positives Testergebnis: Zusätzlich zu der rötlich-violetten Bande an der Kontrolllinie (C) wird an der Position der Testlinie (T) ebenfalls eine rötlich-violette Bande sichtbar. Die Intensität der Testlinie kann je nach der in der Probe vorhandenen Antigenmenge variieren. Jede rötlich-violette Linie (T), auch wenn sie nur schwach sichtbar ist, sollte als positives Ergebnis gewertet werden.

Ungültiges Testergebnis: Das Nichtvorhandensein einer Kontrolllinie weist auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Ungültige Tests mit einer neuen Testvorrichtung wiederholen.



Hinweis: Während des Trocknens kann an der Position der Testlinie ein sehr schwacher Schatten erscheinen. Dieser ist nicht als positives Ergebnis zu werten.

X. QUALITÄTSKONTROLLE

Entsprechend der Guten Laborpraxis empfehlen wir, die Leistung des Tests regelmäßig nach den Laborvorschriften zu überprüfen. Jede Kontrolle kann, zweifach verdünnt in Extraktionspuffer, einmal verwendet werden. 100 µL der verdünnten Kontrolle werden langsam auf die Probenkavität der Vorrichtung pipettiert.

XI. LEISTUNGSDATEN

Es besteht eine ausgezeichnete Übereinstimmung (100 %) zwischen dem RSV K-SeT Kit und dem RSV Respi-Strip Standardkit.

A. Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze wurde mit einem quantifizierten Virus (RS-Virusstamm A-2) ermittelt und als 3,7 X 10² VP/mL beurteilt (ausgehend vom RSV Respi-Strip Kit).

B. Sensitivität - Spezifität (Korrelation)

Das RSV-Kit wurde durch Vergleich mit einer Zellkulturmethode in einem Routinetestlabor (Belgien) validiert.

Coris BioConcept	Culture		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	48	17 ^(a)	65
Negativ	2	170	172
Gesamt	50	187	237

(a) Von den 17 falsch-positiven Ergebnissen mit dem Coris RSV-Kit lieferten 15 beim RT-PCR-Verfahren ein positives Ergebnis²

Empfindlichkeit: 96.0% Positiver prädiktiver Wert: 73.8% (48/65)
Spezifität: 90.9% Negativer prädiktiver Wert: 98.8%
Gesamtübereinstimmung: 92.0%

Korrigierte Ergebnisse nach RT-PCR-Verfahren:
Empfindlichkeit: 96.9% Positiver prädiktiver Wert: 96.9% (63/65)
Spezifität: 98.8% Negativer prädiktiver Wert: 98.8%
Gesamtübereinstimmung: 98.3%

C. Genauigkeit

Zur Überprüfung der Genauigkeit innerhalb einer Charge wurden jeweils dieselben positiven Proben und eine Pufferlösung 15 Mal mit Kits aus derselben Herstellungscharge und unter denselben Versuchsbedingungen bearbeitet. Alle beobachteten Ergebnisse wurden erwartungsgemäß bestätigt.

Zur Überprüfung der chargenübergreifenden (Interbatch-) Genauigkeit wurden einige Proben (Positive und Puffer) mit Kits aus drei verschiedenen Herstellungschargen bearbeitet. Alle Ergebnisse wurden erwartungsgemäß bestätigt.

D. Interferenz

Die Kreuzreaktivität mit Proben, die für die folgenden Pathogene positiv sind, erwies sich in Tests als negativ: Adenovirus, HSV, Parainfluenza, Enterovirus, Influenza A,

Influenza B, Rhinovirus, Nocardia asteroides, Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Streptococcus pyogenes, Aspergillus niger, Legionella pneumophila, Candida albicans, Haemophilus influenzae.

Mit Staphylococcus aureus wurden Tests auf Kreuzreaktivität durchgeführt und erwiesen sich bei einer hohen Bakterienkonzentration (10⁹ KBE/mL) als positiv.

XII. GRENZEN DES KITS

Der Test ist qualitativ und ist nicht in der Lage, die in der Probe vorhandene Antigenmenge vorherzusagen. Zur Diagnosestellung müssen das klinische Bild und weitere Testergebnisse berücksichtigt werden.

Ein positives Testergebnis schließt die Möglichkeit nicht aus, dass andere Pathogene vorhanden sein könnten.

Bei dem Kittest handelt es sich um einen Akutphasen-Screeningtest. Proben, die nach dieser Phase gesammelt werden, enthalten unter Umständen Antigenanteile, die unter der Empfindlichkeitsgrenze des Reagens liegen. Wenn eine Probe trotz der beobachteten Symptome ein negatives Testergebnis liefert, sollte ein anderer einschlägiger Test durchgeführt werden, um die Probe zu überprüfen.

XIII. TECHNISCHE PROBLEME/REKLAMATIONEN

Wenn ein technisches Problem auftritt oder die Leistung nicht mit den Angaben in dieser Packungsbeilage übereinstimmt:

1. Chargennummer des zu reklamierenden Kits notieren
2. Die problematische Probe wenn möglich eingefroren aufbewahren, solange die Reklamation in Bearbeitung ist
3. Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) oder den örtlichen Vertriebspartner kontaktieren

XIV. BIBLIOGRAFISCHE REFERENZEN

- A. Ahluwalia, G.J Embree, P.McNicol, B.Law, and G.W. Hammond; Comparison of nasopharyngeal aspirate and nasopharyngeal swab specimens for respiratory syncytial virus diagnosis by cell culture, indirect immunofluorescence assay, and enzyme-linked immunoabsorbent assay; J.Clin. Microbiol. 257: 763-767, 1987
- B. Mlinaric-Galinovic G, Falsey AR, Walsh EE; Respiratory syncytial virus infection in the elderly; Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis. 1996; 15: 777-781
- C. James B. Peter, M.D., Ph.D.; Use and Interpretation of Laboratory Tests in Infectious Disease; Specialty Laboratories, fifth edition, May 1998
- D. Susanne Abels, David Nadal, Angelika Stroehle and Walter Bossart; Reliable Detection of Respiratory Syncytial Virus Infection in Children for Adequate Hospital Infection Control Management; Journal of Clinical Microbiology, September 2001, p.3135-3139, Vol. 39, No. 9
- E. Joan Barenfanger, Cheryl Drake, Nidia Leon, Tina Mueller, and Tammy Troutt; Clinical and Financial Benefits of Rapid Detection of Respiratory Viruses: an Outcomes Study; Clin. Microbiol. 2000 38: 2824-2828
- F. José M. Navarro-Mari, Sara Sanbonmatsu-Gámez, Mercedes Pérez-Ruiz, and Manuel De La Rosa-Frai; Rapid Detection of Respiratory Viruses by Shell Vial Assay Using Simultaneous Culture of HEp-2, LLC-MK2, and MDCK Cells in a Single Vial; J. Clin. Microbiol. 1999 37: 2346-2347
- G. Gulden Yilmaz, Nilgun Isik, Nilgun Kansak, Selim Badur, Özdem Ang, Serpil Ugur Baysal, and Nedret Uzel; Detection of Respiratory Syncytial Virus in Samples Frozen at -20°C; J. Clin. Microbiol. 1999 37: 2390
- H. Ingrid wybo, Denis Pierard, Daniel Stevens, Oriane Soetens, S. Lauwers; Evaluation of the performance of RSV-Respi-Strip in comparison with cell culture and reverse transcriptase PCR; 19th ECCMID 2009, Helsinki

Letzte Aktualisierung: NOVEMBER 2011

REF	Katalognummer		Hergestellt von
IVD	In-vitro-Diagnostikum		Temperaturgrenzwerte
	Enthält ausreichend Material für <n> Tests	DIL SPE	Verdünnungsprobe
	Gebrauchsanleitung beachten		Nicht wiederverwenden
	Trocken halten		Verwenden bis
DIL AS	Verdünnungsassay	CONT NaNO ₃	Enthält Natriumazid

² Steven J. Read and John B. Kurtz; Laboratory Diagnosis of Common Viral Infections of the Central Nervous System by Using a Single Multiplex PCR Screening Assay. J. Clin. Microbiol 1999 37, No 5: p.1352-1355.