



VERWENDUNGSZWECK

Der Secu[®]RSV Test ist ein immunchromatographischer *in vitro* Test für die schnelle und qualitative Bestimmung des Antigens (F Protein) des Respiratory Syncytial Virus aus Abstrichen (Nase, Nasopharyngeal), Nasopharyngealspülwasser oder Überstand von Kulturen.

EINLEITUNG UND DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Das Respiratory Syncytial Virus (RSV) ist eine der Hauptursachen von Atemwegserkrankungen aller Altersgruppen. Es ist in der Pädiatrie, besonders bei Kindern unter 4 Jahren, die häufigste Ursache schwerer Infektionen des Respirationstraktes. Bei älteren und immungeschwächten Menschen ist es verantwortlich für ernste Verläufe mit hoher Mortalität. Die beiden schwersten Erkrankungen bei Kindern zwischen 2 und 6 Monaten sind Pneumonien und Bronchiolitis. Bei älteren Kindern und Erwachsenen verläuft die Erkrankung weniger schwer, ist im Allgemeinen selbst limitierend und nicht von einer gewöhnlichen Erkältung zu unterscheiden. In den USA infizieren sich jährlich bis zu 50% der Kinder mit RSV. 70% aller Bronchiolitisfälle und von 80.000 bis 125.000 Krankenhauseinweisungen sind auf RSV zurückzuführen. Betroffen sind Neugeborene und Kinder, die unter Asthma, Lungen- oder Herzproblemen leiden. Darüber hinaus ist eine im ersten Lebensjahr durch das RSV ausgelöste Bronchiolitis einer der Hauptrisikofaktoren für späteres Asthma. Das RS-Virus ist sehr ansteckend. Die Übertragung erfolgt durch Tröpfcheninfektion sowie durch direkten oder indirekten Kontakt mit infektiösen Sekreten. Das RS-Virus befällt sowohl den oberen als auch den unteren Respirationstrakt, wobei die vorherrschenden Erkrankungen des unteren Traktes Pneumonien und Bronchiolitiden sind. Die Bronchiolitis wird mit Husten, Atemgeräuschen, beginnender Dyspnoe, erhöhter Atemfrequenz mit bis zu 40 Atemzügen pro Minute und bläulicher Verfärbung der Haut um den Mund diagnostiziert. Häufige Symptome der Pneumonie sind Atemnot und auskultatorisches Knistern (Crepitatio).

TESTPRINZIP

Der Secu[®]RSV Test ist gebrauchsfertig. Der Test dient dem Nachweis von RSV direkt aus Nasopharyngeal-Sekret. Um eine höhere Sensitivität zu erreichen, kann er auch mit dem Überstand einer mehrere Tage alten Zellkultur durchgeführt werden. Er beruht auf einem immunchromatographischen homogenen System mit kolloidalen Goldpartikeln. Monoklonale Antikörper gegen ein Epitop des F Proteins von RSV sind in der T-Region an die Nitrocellulosemembran gebunden. Ein weiterer monoklonaler Antikörper ist an Goldpartikel gebunden und für ein zweites Epitop des F Proteins von RSV spezifisch. Dieses Konjugat wird auf einer Polyestermembran im unteren Streifen des Tests immobilisiert. Enthält die Probe RS-Viren bindet das F Protein an das Konjugat, welches anschließend mittels Kapillarkräften an der Membran entlang wandert und mit den Anti-RSV Antikörpern in der Testregion reagiert. Das Ergebnis ist innerhalb von 15 Minuten sichtbar und wird durch eine rote Testlinie auf dem Teststreifen angezeigt. Bei der weiteren Wanderung trifft die Lösung auf ein Kontrollreagenz, das den Konjugat-Überschuss bindet und damit eine zweite rote Linie hervorruft, die als Kontroll-Linie den ordnungsgemäßen Ablauf des Tests bestätigt.

BESTANDTEILE DER TESTPACKUNG

Mitgelieferte Materialien:

- 10 einzeln verpackte Secu[®]RSV Teststreifen
- 1 Flasche Extraktionspuffer (15 ml) (gepufferte Kochsalzlösung (pH 7,5), enthält Borate, NaN₃ (<0,1%) und ein Detergens)
- 10 Teströhrchen
- Gemäß 93/42/EWG mitgeliefertes zusätzliches Material: 10 sterile Abstrichtupfer (Copan FLOQ Swabs) CE O123



Copan Flock Technologies srl,
Via F.Perotti 18,
25125 Brescia – Italy

- Einwegpipetten
- 1 Röhrchenhalter
- 1 Gebrauchsanweisung

Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer
- Secu[®]RSV Positivkontrolle (auf Anfrage lieferbar)

HALTBARKEIT UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

Der ungeöffnete Secu[®]RSV Test sollte bei 4-30°C gelagert werden und kann bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Die Secu[®]RSV Teststreifen und Extraktionspuffer dürfen nicht eingefroren werden.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle mit der Verwendung des Tests verbundenen Arbeitsschritte sollten gemäß GLP (*Gute Labor-Praxis*) erfolgen.
- Der Secu[®]RSV Test ist nur für den *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch bestimmt.
- Berühren Sie den Nitrocellulose-Teststreifen nicht mit den Fingern.
- Tragen Sie bei der Handhabung der Proben Handschuhe.
- Beseitigen Sie benutzte Handschuhe, Tupfer, Teströhrchen, und Teststreifen gemäß *GLP*.
- Verwenden Sie keine Reagenzien aus anderen Test-Kits.
- Öffnen Sie die Folienbeutel mit Vorsicht, damit die Teststreifen nicht beschädigt werden.
- Die Absorptionsstellen der Immunreagenzien sind durch grüne Linien angezeigt. Die grüne Farbe verschwindet während des Testverlaufs.
- Verwenden Sie keinen Extraktionspuffer, der mit Bakterien oder Schimmelpilzen kontaminiert ist.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums oder bei nicht sachgemäßer Lagerung der Reagenzien kann keine Qualitätsgarantie übernommen werden.
- Zur Vermeidung einer Verdünnung des kolloidalen Goldkonjugats in der Lösung achten Sie darauf, dass der Teststreifen nicht über die unter den braunen Pfeilen markierten Linie eingetaucht wird.



PROBENNAHME, -VORBEREITUNG UND -LAGERUNG

Die zu testenden Proben sollen entsprechend der standardisierten Methoden für die Entnahme und Secu®RSV Test DE Handhabung von Nasenrachenproben, Nasenrachenspülwasser und Nasenabstrichen gewonnen und gelagert werden. Die Proben müssen sobald wie möglich nach der Entnahme getestet werden. Wenn sie nicht sofort verwendet werden, sollten sie bis zu 24 Stunden bei 2-8°C oder bei -20°C über einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden. Vergewissern Sie sich, dass die Proben nicht mit Formaldehyd oder deren Derivaten behandelt wurden.

Die folgenden Transportmedien sind getestet worden und haben sich als kompatibel mit dem Secu®RSV Test erwiesen: M4 und M5 von Remel (Oxoid), Virocult-Medium (MWE), Hank's BSS in Vircell-Medium, RPMI und Amies-Medium ohne Kohle. Stuart-Transportmedium und Amies-Medium mit Kohle sind mit dieser Vorrichtung nicht kompatibel.

Verwenden Sie für Abstriche der Nasensekretionen nur die beigefügten Copan FLOQ Tupfer, um dieselbe Leistungseffizienz wie bei der Verwendung von Nasenrachenspülungen bzw. -sekret zu garantieren. Die Tauglichkeit von Abstrichtupfern anderer Marken bzw. Hersteller für den Secu®RSV Test ist nicht erwiesen. Die Verwendung von Sputum oder Saliva ist unbedingt zu vermeiden, da diese zu ungültigen Ergebnissen führen können. Copan FLOQ Tupfer mit Copan UTM können vor der Testung bis 72 Stunden bei 2-8°C gelagert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Testvorbereitungen:

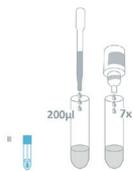
Bringen Sie die Bestandteile des Secu®RSV Tests (in ungeöffneter Verpackung) vor Testbeginn auf Raumtemperatur (15-30°C). Nach dem Öffnen sofort den Test durchführen. Die Röhrchen mit der Probennummer beschriften. Die beschrifteten Teströhrchen in einen Ständer stellen.

Probenvorbereitung:

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

1a) Flüssige Nasenrachenspülungen und/oder -aspirate oder Kulturüberstand.

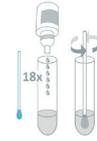
- I. 200 µL der flüssigen Probe mit 7 Tropfen Extraktionspuffer mischen, um ein Probenverdünnungsverhältnis von 1:2 herzustellen.
- II. Tupfer, die nicht sofort nach Probennahme getestet werden, sollten in einem Röhrchen mit Gel- oder Schwammatrix oder einem Transportmedium aufbewahrt werden.



Während der Probenvorbereitung sollte die Probe im Extraktionspuffer aufgelöst werden, indem der Tupfer an der Röhrchenwand gründlich ausgepresst wird und die resultierende Lösung, wie im Punkt I. beschrieben, weiterverarbeitet wird.

1b) Trockene Tupfer:

1. Die mit dem Secu®RSV Test mitgelieferten Tupfer sollten verwendet werden. Tupfer, die sofort nach Probennahme getestet werden, werden in 18 Tropfen Extraktionspuffer getaucht und an der Röhrchenwand ausgepresst. Der Abstrichtupfer sollte nicht vor dem Ausdrücken der Probe gegen eine Fläche gedrückt werden, da dies zu einem Verlust von Viren und zu einer Verringerung der Empfindlichkeit führen könnte. Gründlich umrühren, um die Lösung zu homogenisieren.



Durchführung des Tests mit dem Teststreifen

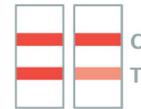
2. Tauchen Sie den Teststreifen in Pfeilrichtung in das Röhrchen. Belassen Sie den Teststreifen im Röhrchen. Der Teststreifen darf nur bis zur Markierungslinie unterhalb des Pfeils in die verdünnte Probe eingetaucht werden.
3. Lesen Sie nach 15 Minuten das Ergebnis ab. Positive Ergebnisse, die bereits vor Ablauf der Zeit zu sehen sind können bereits verwendet werden. Nach mehr als 15 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



TESTAUSWERTUNG

POSITIV:

Zusätzlich zu der rötlich-violetten Linie in der Kontrollregion (C) erscheint eine rötlich-violette Linie in der Testregion (T). Die Intensität der Testlinie kann je nach der in der Probe vorhandenen Antigenmenge variieren. Jede rötlichviolette Linie (T), auch wenn sie nur schwach sichtbar ist, sollte als positives Ergebnis gewertet werden.



NEGATIV:

Eine rötlich-violetten Linie erscheint in der Kontrollregion (C). In der Testregion (T) ist keine Linie sichtbar.



UNGÜLTIG:

Das Nichtvorhandensein einer Kontrolllinie weist auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Die Untersuchung sollte mit einem neuen Test wiederholt werden.

Nach dem Trocknen kann ein Schatteneffekt im Bereich der Testlinie auftreten. Diese Linie darf nicht als positives Testergebnis interpretiert werden.



QUALITÄTSKONTROLLE

Der Teststreifen beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle: Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

In Übereinstimmung mit der *Guten Laborpraxis (GLP)* empfehlen wir die Leistung des Tests regelmäßig nach den Laborvorschriften zu überprüfen. Dies kann mit der spezifischen Secu®RSV Test Positivkontrolle erfolgen.



GRENZEN DES TESTS

Der Secu®RSV Test ist qualitativ und ist nicht in der Lage, die in der Probe vorhandene Antigenmenge vorherzusagen. Die Ergebnisse des Secu®RSV Tests müssen im Zusammenhang mit allen anderen verfügbaren klinischen Informationen gesehen werden. Ein positives Testergebnis schließt die Möglichkeit nicht aus, dass andere Pathogene vorhanden sein könnten.

Bei dem Secu®RSV Test handelt es sich um einen Akutphasen-Screeningtest. Proben, die nach dieser Phase gesammelt werden, enthalten unter Umständen Antigentiter, 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.

LEISTUNGSMERKMALE DES TESTS

Nachweisgrenze

Nachweisgrenze von $3,7 \times 10^5$ vp/ml wurde anhand einer quantifizierten Virus-Stammlösung (RSV-Stamm A-2) bestimmt und evaluiert.

Sensitivität und Spezifität (Korrelation)

Der Secu®RSV Test wurde in zwei Labors (Belgien) im Vergleich zur qPCR-Methode validiert.

		qPCR		
		Positiv	Negativ	Total
Secu®RSV Test	Positiv	121	4	125
	Negativ	32	91	123
	Total	153	95	248

95 % Konfidenzintervall

Sensitivität: 79,1 % (71,6 to 85,1%)

Spezifität: 95,8 % (89,0 to 98,6%)

Positiver prädiktiver Wert: 96,8 % (91,5 to 99,0%)

Negativer prädiktiver Wert: 74,0 % (65,2 to 81,3%)

Gesamtübereinstimmung: 85,5 % (212/248)

Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Um die Genauigkeit der Tests innerhalb einer Charge zu überprüfen, wurde die gleichen Positivproben und Puffer-Lösung unter gleichen Bedingungen 15 Mal mit Teststreifen aus einer Charge überprüft. Die Ergebnisse lagen alle im erwarteten Bereich. Um die Genauigkeit unterschiedlicher Chargen zu überprüfen, wurden gleiche Proben (Positiv und Puffer) mit Teststreifen von drei unterschiedlichen Chargen geprüft. Auch hier lagen alle Ergebnisse im erwarteten Bereich.

Interferenz

Eine mögliche Kreuzreaktivität wurde mit folgenden Krankheitserregern untersucht: *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*.

Das Ergebnis war in jedem Fall negativ.

Mit *Staphylococcus aureus* in sehr hoher Bakterienkonzentration (10^9 cfu/ml) zeigte der Test eine positive Reaktion.

LITERATUR

- Ahluwalla, G.J Embree, P McNicol, B.Law, and G.W. Hammond J.Clin. Microbiol. 257: 763-767, 1987 „Comparison of nasopharyngeal aspirate and nasopharyngeal swab specimens for respiratory syncytial virus diagnosis by cell culture, indirect immunofluorescence assay, and enzyme-linked immunoabsorbent assay.”
- Mlinaric-Galinovic G, FalseyAR, WalshEE, Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis. 1996; 15: 777-781 „Respiratory syncytial virus infection in the elderly.”
- Jame B. Peter,M.D., Ph.D., Specialty Laboratories, fifth edition, May 1998 „Use and Interpretation of Laboratory Tests in Infectious Disease”
- Susanne Abels, 1,2 David Nadal, 2 Angelika Stroehle, 1 and Walter Bossart1, Journal of Clinical Microbiology, September 2001, p. 3135-3139, Vol. 39, No. 9 „Reliable Detection of Respiratory Syncytial Virus Infection in Children for Adequate Hospital Infection Control Management”
- Joan Barenfanger, Cheryl Drake, Nidia Leon, TinaMueller, and Tammy Troutt, J. Clin. Microbiol. 2000 38: 2824-2828 „Clinical and Financial Benefits of Rapid Detection of Respiratory Viruses: an Outcomes Study”
- José M. Navarro-Marí, Sara Sanbonmatsu-Gámez, Mercedes Pérez-Ruiz, and Manuel De La Rosa-Fr ai J. Clin. Microbiol. 1999 37: 2346-2347 „Rapid Detection of Respiratory Viruses by Shell Vial Assay Using Simultaneous Culture of HEp-2, LLCMK2, and MDCK Cells in a Single Vial”
- Gulden Yilmaz, Nilgun Isik, Nilgun Kansak, Selim Badur, Özdem Ang, Serpil Ugur Baysal, andNedret Uzel J. Clin. Microbiol. 1999 37: 2390 „Detection of Respiratory Syncytial Virus in Samples Frozen at -20°C”
- Ingrid Wybo, Denis Pierard, Daniel Stevens, Oriane Soetens, S. Lauwers: Evaluation of the performance of dedicio® RSV in comparison with cell culture and reverse transcriptase PCR. 19th ECCMID 2009, Helsinki

SYMBOLERLÄUTERUNGEN



CE Konformitätszeichen



Nicht wiederverwenden



Gebrauchsanweisung beachten



Verwendbar bis



In-vitro-Diagnostikum



Bestellnummer



Temperaturbegrenzung



Hersteller



Chargennummer



Ausreichend für <n> Tests

KONTAKT

Stephany Hochrhein GmbH
Am Weiler Weg 3
79588 Efringen-Kirchen
Germany



nal von minden GmbH
Carl-Zeiss-Strasse 12
47445 Moers
Germany

+49 (0) 7628 / 8055385
+49 (0) 7628 / 8055386
info@stephany-hochrhein.de

Rev. 5, 2017-05-31-B.F.S