

NOW[®]

RSV
TEST

POUŽITÍ

Binax NOW[®] RSV TEST je rychlá imunochromatografická metoda pro kvalitativní stanovení antigenu RSV (Respiračního Syncyciálního Viru) z nasálního výplachu nebo výtěru z nosohltanu u symptomatických pacientů. Je určen pro *in vitro* diagnostiku Respiračního syncyciálního viru u novorozenců a dětí pod 5 let. Negativní výsledek by měl být potvrzen kultivací na buněčné kultuře.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ TESTU

RSV způsobuje často se vyskytující onemocnění horních i dolních cest dýchacích, nejčastěji bronchitid a pneumonií novorozenců a dětí. Infekce RSV nejčastěji propuká v podzimních, zimních a jarních měsících. Přestože může RSV způsobit onemocnění u větších dětí a dospělých, jejich průběh je mírnější než u malých dětí.

Rychlé odhalení a diagnóza RSV přispívá k lepšímu výběru antimikrobiální terapie. Rychlá identifikace může vést také ke zkrácení doby hospitalizace, ke snížení spotřeby antimikrobiálních chemoterapeutik a také ke snížení ceny nemocniční péče.

Binax NOW[®] RSV TEST poskytuje rychlou a jednoduchou metodu pro diagnostiku RSV z nasálního výplachu a nebo z výtěru z nosohltanu.

Test je navržen pro velmi jednoduché použití a rychlé výsledky dovolují jejich použití ve statimovém testování, kde mohou poskytnout informace pro lepší rozhodnutí o léčbě nebo případné hospitalizaci.

PRINCIPY STANOVENÍ

VZORKOVÁ LINIE

KONTROLNÍ LINIE



Binax NOW[®] RSV TEST je imunochromatografické stanovení na membráně k detekci antigenu RSV v nasálním výplachu a nebo výtěru z nosohltanu.

Anti-RSV protilátka je absorbována na nitrocelulosovou membránu ve vzorkové linii. Kontrolní protilátka je absorbována na druhou - kontrolní linii, která má u nepoužitého testu vždy modrou barvu (viz obr.). Obě protilátky jsou konjugovány a vysušeny na inertním vláknitém nosiči. Ten spolu s membránou vytváří testovací proužek. Testovací proužek je umístěn na pravé straně testovací kazety.

Vzorky výtěru z nosohltanu vyžadují před testováním přípravu. Ta se provádí namočením tamponu do elučního roztoku. Nasální výplachy tento krok nevyžadují a pracuje se s nimi přímo.

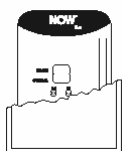
Při provedení testu je vzorek aplikován na horní část testovacího proužku a systém je poté uzavřen. RSV-antigen je vázán konjugovanou anti-RSV protilátkou na membráně a vytváří růžový proužek ve vzorkové linii. Kontrolní imobilizovaná protilátka je zachycena konjugátem a vytváří růžový proužek v kontrolní linii. Pokud kontrolní linie zůstala modrá, nelze test hodnotit.

Test je hodnocen na základě přítomnosti nebo nepřítomnosti detekčních růžovo-červených linií. Pozitivní výsledek je čitelný do 15 minut a zahrnuje detekci vzorkové i kontrolní linie. Negativní výsledek je čitelný za 15 minut, je prezentován pouze kontrolní linií a indikuje, že RSV-antigen není ve vzorku pacienta přítomen. Selhání kontrolní linie nebo její modrá barva ukazuje na chybný nebo špatně provedený test.

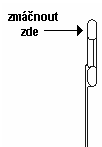
REAGENCIE A MATERIÁL

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

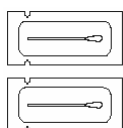
Binax NOW® RSV TEST Kit



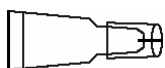
- Testovací kazeta s membránou (potaženou myšími protilátkami specifickými proti RSV antigenu a kontrolní konjugovaná protilátka). Nepoužitý testovací proužek má vždy kontrolní linii modré barvy.



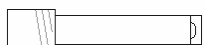
- Pipetky – pipetky se používají na přenos vzorku na membránu. Mají přesně odměřený objem 100 μ L. Použijte proto jen tyto pipetky nebo přesně kalibrované pipety se špičkami na jedno použití.



- Tampony - pozitivní kontrola – tampon s inaktivovaným a vysušeným RSV
- negativní kontrola – tampon s inaktivovanými streptokoky skup. A

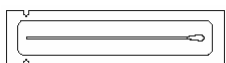


- Ampule s elučním roztokem pro kontrolní tampony - obsahuje 0,5 mL vymývacího roztoku pro přípravu kontrolních tamponů. Nepoužívejte jiné vymývací roztoky.

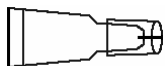


- Vialky se šroubovým uzávěrem pro přípravu kontrolního tamponu na testování.

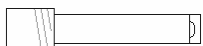
Balíček pro testování výtěrů z nosu



- Tampony – navržené pro použití Binax NOW[®] RSV TEST.
Nepoužívejte jiné tampony.



- Ampule s elučním roztokem - obsahuje 0,5 mL roztoku pro vymytí vzorku z tamponů. Nepoužívejte jiné vymývací roztoky.



- Vialky se šroubovým uzávěrem pro přípravu tamponu na testování.

NEPOSKYTOVANÝ MATERIÁL

- Stopky nebo budík
- Odběrové nádoby na nasální výplach
- Transportní média

PREVENCE

1. Test je určen pro *in vitro* diagnostické testy.
2. Nevybalujte kazetu z ochranné folie, dokud nebudete mít připravený vzorek.
3. Nepoužívejte kit po uplynutí doby expirace
4. Nemíchejte reagenty a materiál různých šarží.
5. Horní část testovacího proužku obsahuje reagentii extrahující cílový antigen z viru. Nanášejte proto vzorek velmi pomalu na střed plochy.
6. RSV pozitivní kontrolní tampony z tkáně infikované RSV byly inaktivovány použitím standardních metod a ihned testovány. Přesto dodržujte hygienu práce a zacházejte s pacientovým vzorkem, který může být infekční, a s kontrolami i testovými kazetami jako s potenciálně infekčním materiálem.
7. Chybné výsledky se mohou vyskytnout, pokud se na kazetu nepodaří nanést správné množství vzorku. Dbejte vždy na to, aby pipetka byla naplněna bez vzduchových bublin. Pokud pozorujete v pipetce se vzorkem bublinu, opakujte nasátí do pipetky. Pokud je třeba, použijte novou pipetku.
8. Pokud pracujete s nasálním výplachem, může se stát, že bude obsahovat hlenové částičky, které mohou pipetku ucpat. Zabraňte proto těmto částičkám ve vniknutí do pipetky, které by znesnadnilo stanovení použitím nesprávného objemu. Pokud je to nutné, použijte novou pipetu.
9. Bylo zjištěno, že tampony bavlněné, pěnové, polyesterové nebo tampony z umělého hedvábí jsou použitelné pro tento test. Nepožívejte tampony s kalcium alginátem.
10. Všechny pipetky, ampule a vialky jsou jednorázové. Nepoužívejte je vícekrát.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Skladujte kit při laboratorní teplotě (15-30°C). Reagentie Binax NOW[®] RSV TESTu jsou stabilní do doby expirace vyznačené na obale.

SBĚR VZORKU

Pro testy Binax NOW[®] RSV jsou nutné čerstvé vzorky.

Používejte tampony bavlněné, pěnové, polyesterové nebo tampony z umělého hedvábí. Vzorky z tamponů vymyjte okamžitě do elučního roztoku nebo transportního média a test proveďte co nejdříve. Pokud není možné vzorky testovat okamžitě, vymyjte je z tamponů do 0,5-3 mL transportního média. Vymyté vzorky ve vialkách lze skladovat maximálně 4 hodiny při laboratorní teplotě nebo 48 hodin při 2-8°C.

Před testováním však musí být všechny vzorky vytemperovány na laboratorní teplotu a jemně promíchány.

Na sběr nasálních výplachů mohou být použity standardní sbírací nádoby. Metoda odběru je závislá na věku pacienta. Testujte vzorky co nejdříve po odběru. Pokud je to nutné, lze vzorky maximálně 4 hodiny při laboratorní teplotě nebo 24 hodin při teplotě 2-8°C. Stejně jako u výtěrů musí být tyto vzorky před testováním vytemperovány na laboratorní teplotu a jemně promíchány.

Transportní medium

Transportní media Amies, Binax eluční roztok, HBSS, M4, M4-RT, M5, fyziologický roztok a Stuartovo medium byly testovány a byly vyhodnoceny jako vhodné pro NOW[®] test.

KONTROLA KVALITY

Denní kontrola kvality

Binax NOW[®] RSV TEST obsahuje kontrolní linii v každé kazetě. Výrobce doporučuje pro denní kontrolu kvality dokumentovat tyto interní kontroly pro každý vzorek.

- A. Nepoužité kazety mají modrou kontrolní linii. Pokud je test proveden správně, je použito dostatečné množství vzorku a test je dobrý, modrá kontrolní linie se přemění na růžovou.
- B. Pozadí na testování proužku může být lehce růžové. K vyčištění případného růžového pozadí testu dojde do 15-ti minut a nemělo by znemožňovat přečtení testu.

Externí pozitivní a negativní kontrola

Zásadou dobré laboratorní praxe je používat pozitivní a negativní kontroly k ujištění, že:

- reagensie nanesené na kazetě jsou funkční
- zobrazení výsledku je správné

NOW[®] TEST obsahuje pozitivní a negativní kontrolní tampony, které kontrolují eventuální selhání reagensí v testu. Není zaručeno, že pozitivní kontrolní tampon bude mít hodnotu cut-off linie testu. Testujte tyto tampony vždy, když otevřete nový kit v rámci běžné laboratorní kontroly. Další pozitivní a negativní tampony je možné doobjednat.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

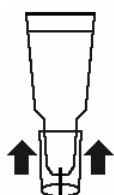
Nasální výplach

Tyto vzorky nepotřebují přípravu, pokračujte provedením testu.

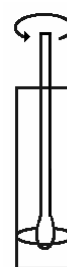
Výtěr z nosohltanu

Vymyjte tampon v 0,5-3 mL transportního systému a pokračujte v testování jako u nasálních výplachů. Pokud používáte Binax eluční roztok, postupujte jako při testování kontrolních tamponů (viz níže).

Kontrolní tampony



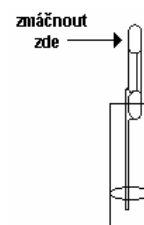
1. Ve víčku ampule je drobná jehla. Víčko nešroubujte, ale stlačte proti ampuli. Jehla slyšitelně probodne její horní část. Poté odstraňte víčko a celý obsah vylijte do vialky.
2. Namočte tampon do roztoku ve vialce a několikrát s ním otočte.
3. Přitiskněte tampon ke stěně vialky a otřete ho o ni otáčením. Tím vytlačíte vzorek do roztoku.
4. Tampon vyhodte.
5. Proveďte test co nejdříve po tomto kroku.



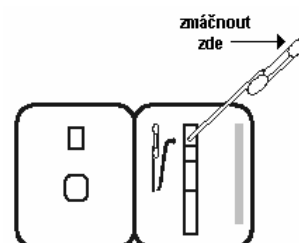
PROVEDENÍ TESTU

1. Ochrannou folii odstraňte těsně před testováním. kazetu položte na stůl vodorovně.

2. Stlačte silně horní část pipetky, ponořte ji do vialky a uvolněním roztok nasajte. Ujistěte se, že v dolní části pipetky není žádná vzduchová bublina.

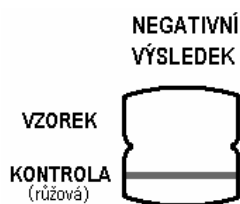


3. Celý obsah pipetky pomalu naneste na horní část testovacího proužku tak, aby se celý obsah (100 µL) vsáknul.



4. Odstraňte adhezivní pásku na pravé straně testovací kazety a zavřete kazetu. Výsledek přečtěte po 15 min. Výsledky odečtené dříve mohou být nepřesné!

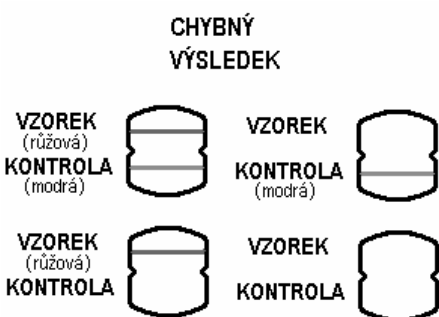
INTERPRETACE VÝSLEDKŮ



Negativní výsledek – modrá kontrolní linie se v průběhu 15-ti minut změní na růžovo-červenou. Žádná jiná linie se neobjeví.



Pozitivní výsledek - modrá kontrolní linie se v průběhu 15-ti minut změní na růžovo-červenou a nad ní se objeví ještě jedna růžovo-červená linie vzorku. Vzorky se slabší pozitivitou dávají slabší linie, ale **každá i slabá vzorková linie je považována za pozitivní výsledek.**



Chybný výsledek - pokud kontrolní linie zůstane modrá, a to i v přítomnosti vzorkové linie, nebo není-li přítomna žádná kontrolní linie, je test chybný a měl by být opakován.

Pozitivní výsledek: Ve vzorku je přítomen RSV-antigen. Pozitivní výsledek se může ukázat i při nepřítomnosti živého viru ve vzorku.

Negativní výsledek: Ve vzorku není přítomen RSV-antigen. Infekci RSV ale nelze vyloučit. Je možné, že hladina antigenu ještě nepřesáhla prahové hodnoty testu. Binax doporučuje provést kultivaci všech negativních vzorků.

OMEZENÍ

Binax NOW[®] RSV TEST detekuje jak živou formu, tak usmrcenou formu viru. Výsledek testu závisí na množství antigenu ve vzorku a nemusí korelovat s výsledky kultivace.

Nevhodný způsob sběru vzorku nebo nízká hladina viru ve vyplachovacím roztoku může způsobit falešně negativní Binax NOW[®] RSV TEST.

Negativní test nevylučuje infekci RSV, ani jinou mikrobiální infekci dýchacích cest.

Výsledky získané tímto testem je zejména u slabších linií obtížné interpretovat. Tyto výsledky by měly být používány ve spojení s klinickými nálezy.

Binax Test nebyl vyzkoušen na pacientech, kteří jsou léčeni *palivizumabem*. Každopádně bylo analytickou studií zjištěno, že *palivizumab* narušuje schopnost Binax NOW[®] RSV TESTu detekovat RSV.

Potenciální interference antimikrobiální terapie a interferonu nebyla určena.

Monoklonální protilátky nemusí detekovat všechny antigenní varianty nebo nové řetězce RSV.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Prevalence RSV se liší rok od roku s vrcholy výskytu typickými pro podzimní a zimní měsíce. Stupeň pozitivity je závislý na mnoha faktorech zahrnujících metodu sběru vzorku, metodu testování, geografickou lokalitu a prevalenci onemocnění v těchto specifických lokalitách. V klinické studii Binax v roce 2002 byla průměrná prevalence RSV 2% v nasálním výplachu a 4% ve výtěrech. Prevalence RSV v následujícím roce byla 23%.

INTERPRETACE DAT

Analytická reaktivita

Jsou známy 2 podskupiny RSV a obě obsahují konzervovanou sekvenci proteinu, proti které je test naměřen. ² Bylo testováno 6 podskupin A a 5 podskupin B, klinicky izolovaných a pozitivních testem Binax NOW[®]. Byly testovány v koncentracích od $1,56 \times 10^{-1}$ do 5×10^4 TCID₅₀/mL.

Poznámka: Poskytnuté údaje v TCID₅₀/mL jsou jen orientační, výsledek vždy záleží na mnoha faktorech, například na samotné buněčné linii, počtu pasáží apod.

Analytická přesnost

Pro ověření analytické přesnosti testu Binax NOW[®] RSV TEST bylo použito 48 komensálních a patogenních mikroorganismů (28 bakteriálních a 20 virových), které se nejčastěji vyskytují v nosní dutině nebo nosohltanu. Všechny byly negativní v koncentraci vyšší než 1×10^5 TCID₅₀/mL (viry) a více než 1×10^8 buněk/mL (bakterie). Metapneumovirus byl testován v koncentraci 2×10^3 TCID₅₀/mL a nevykazoval cross-reaktivitu.

Bakterie	Viry
<i>Acinetobacter</i>	Adenovirus 5 *
<i>Bordetella pertussis</i>	Adenovirus 7 *
<i>Candida albicans</i>	CMV *
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coronavirus *
<i>Escherichia coli</i>	Coxsackie B4 *
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Influenza A2 /Japan/ 305 / 57
<i>Haemophilus influenzae</i>	Influenza A /Hong Kong/ 8 / 68
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Influenza A /Aichi/ 2 / 68
<i>Lactobacillus casei</i>	Influenza A /PR/ 8 / 34
<i>Legionella pneumophila</i>	Influenza A /Victoria/ 3 / 75
<i>Listeria monocytogenes</i>	Influenza A1 /FM/ 1 / 47
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Influenza B /Allen/45
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Influenza B /Lee/40
<i>Neisseria meningitidis</i>	Influenza B /Mass/ 3 / 66
<i>Neisseria sicca</i>	Influenza B /Maryland/ 1 / 59
<i>Neisseria subflava</i>	Influenza B /Taiwan/ 2 / 62
<i>Proteus vulgaris</i>	Metapneumovirus

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Parainfluenza 1 *
<i>Serratia marcescens</i>	Parainfluenza 2 *
<i>Staphylococcus aureus</i>	Parainfluenza 3 *
<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan protein A produkující kmen)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Streptococcus</i> skup. A	
<i>Streptococcus</i> skup. B	
<i>Streptococcus</i> skup. C	
<i>Streptococcus</i> skup. F	
<i>Streptococcus mutans</i>	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	

* Tyto virové řetězce byly dodány z laboratoře American Type Culture Collection (ATCC) s informacemi o titru. Titr nebyl prověřen firmou Binax.

Interferující substance

V následující tabulce jsou uvedeny interferující substance a jejich koncentrace, které se mohou normálně vyskytnout ve vzorku a které byly testovány testem Binax NOW[®] RSV.

Substance	koncentrace
Krev	2%
Ústní voda	25%
Krční kapky	25%
Nosní spray	25%
4-acetamidophenol	10 mg/mL
Kys. acetylsalicylová	20 mg/mL
Albuterol	20 mg/mL
Chlorpheniramin	5 mg/mL
Dextromethorphan	10 mg/mL
Diphenhydramin	5 mg/mL
Guaiacol glycerol ether	20 mg/mL
Oxymetazolin	10 mg/mL
Phenylephrin	100 mg/mL
Phenylpropanolamin	20 mg/mL
Rebetol	500 ng/mL
Relenza	20 mg/mL
Rimantadin	500 ng/mL
Tamiflu	100 mg/mL

NASÁLNÍ VÝPLACH

Klinická přesnost (prospektivní studie)

Výsledky testu Binax NOW[®] RSV byly porovnávány s buněčnými kulturami v multicentrické studii, provedené během chřipkové sezony v roce 2002 v USA firmou

Binax. Studie probíhala v ordinacích praktických lékařů a na klinikách v různých částech USA. Nasální výplachy byly sbírány od dětí a dospělých s příznaky infekce RSV, které se u nich projevily 3 dny a méně. Vzorky byly podrobeny testu Binax NOW[®]. Testované skupiny tvořilo 46% žen a 54% mužů. Vyloučení byli pacienti očkováni v posledních 6-ti měsících proti chřipce a pacienti, kteří se v posledních 30-ti dnech podrobili medikamentózní léčbě proti chřipce nebo RSV. Tito však nevykazovali falešné výsledky.

Bylo testováno 191 pacientů na 4 různých místech (viz tab.) Binax NOW[®] RSV TEST vykazoval celkovou přesnost 98%, celkovou shoda 98%. Vyhodnocení testů a interval spolehlivosti (IS 95%) je v uveden v následujících tabulkách.

	Nasální výplach				IS 95%
	Virová kultura				
	pozitivní	negativní			
NOW [®] pozitivní	3	3	Přesnost	98% (184/187)	88,7% - 98,4%
NOW [®] negativní	1	184	Celková shoda	98% (187/191)	88,7% - 98,4%

místo	pozitivní	přesnost		
	NOW[®]/kultura	NOW[®]/kultura	%	IS 95%
1	1/1	91/94	97	91,1% - 98,8%
2	2/3	83/83	100	95,7% - 100%
3	0/0	6/6	100	59,0% - 99,6%
4	0/0	4/4	100	47,8% - 99,5%

Klinická citlivost a přesnost

Vzhledem k tomu, že během prospektivní studie byl nalezen jen nízký počet pozitivních vzorků, které potvrzovali infekci RSV, byla provedena následná retrospektivní studie. Prověřeno bylo 47 pozitivních kultur získaných ze vzorků pacientů pozitivních na RSV a dále 12 negativních vzorků. Všechny vzorky byly prověřeny testem Binax NOW[®] RSV. Vzorky byly sbírány ve velkém univerzitním lékařském centru a pocházely od pacientů ze severovýchodní části USA. Testované skupiny tvořilo 51% žen a 49% mužů.

Binax NOW[®] RSV TEST vykazoval citlivost 89% a přesnost 100%. Celková shoda byla 92%. Vyhodnocení testů a interval spolehlivosti (IS 95%) je v uveden v následujících tabulkách.

	Nasální výplach				IS 95%
	Virová kultura				
	pozitivní	negativní	Citlivost	89% (42/47)	77,3% - 95,3%
NOW [®] pozitivní	42	0	Přesnost	100% (12/12)	75,3% - 99,8%
NOW [®] negativní	5	12	Celková shoda	92% (54/59)	81,6% - 96,2%

VÝTĚŘ Z NOSOHLTANU

Výsledky testu Binax NOW[®] RSV výtěrů z nosohltanu byly porovnávány s buněčnou kulturou/DFA v multicentrické studii provedené ve Spojených Státech během chřipkové sezóny 2002 a 2003. Vzorky byly odebírány dětským pacientům, kteří vykazovali symptomy infekce RSV nebo chřipce podobné symptomy. Tampon byl vymyt v 0,5 – 3 mL transportního média pro prověření testem Binax. Testované skupiny tvořilo 43% žen a 57% mužů.

Celkově bylo testováno 179 výtěrů z nosohltanu a žádný test nedával chybný výsledek. Citlivost, přesnost a celková shoda porovnávaná s kulturou/DFA byla 93%. Vyhodnocení testů a interval spolehlivosti (IS 95%) je v uveden v následujících tabulkách.

	Výtěr z nosohltanu				IS 95%
	Kultura/DFA				
	pozitivní	negativní	Citlivost	93% (25/27)	76,5% - 97,7%
NOW [®] pozitivní	25	10	Přesnost	93% (142/152)	88,3% - 96,4%
NOW [®] negativní	2	142	Celková shoda	93% (167/179)	88,6% - 96,1%

Citlivost			
místo	počet	%	IS 95%
1	14/15	93	69,8- 98,4
2	9/10	90	58,7-97,7
3	0/0	x	x
4	2/2	100	29,2-99,2

Přesnost			
místo	počet	%	IS 95%
1	69/74	93	85,1-97,0
2	20/23	87	67,6-95,3
3	16/18	89	66,9-96,6
4	37/37	100	90,7-99,9

Reprodukovatelnost

Slepá studie Binax NOW[®] RSV TESTu byla provedena na třech oddělených pracovištích za použití panelu slepě kódovaných vzorků. Panel obsahoval negativní, slabě pozitivní, středně pozitivní a silně pozitivní vzorky. Každý vzorek byl testován v několika cyklech po 3 dny. Z 234 vzorků dalo 100% očekávaný výsledek a interval spolehlivosti tohoto testu byl 98,4% - 100%.

CITACE

- 1) Williams, KM, Jackson MA, Hamilton M. Rapid Diagnostic Testing for URIs in Children: Impact on Physician Decision Making and Cost. Infect. Med. 19(3):109-111, 2002.
- 2) Lopez, Juan A., R. Bustos, C. Orvell, M. Berois, J. Arbiza, B. Garcia-Barreno, J. Melero. Antigenic Structure of Human Respiratory Syncytial Virus Fusion Glycoprotein. Jr. of Virology, vol. 72, no. 8, August 1998, pp. 6922-6928.

OBJEDNACÍ KATALOGOVÁ ČÍSLA

430-000 Binax NOW[®] RSV TEST (42 testů v soupravě)
430-000 Binax NOW[®] RSV TEST (22 testů v soupravě)

VÝROBCE

Inverness medical
profesional diagnostics

Binax, Inc., 10 Southgate Road, Scarborough, Maine 04047 USA
TEL: USA: 800-257-9525 Mimo USA: 1-609-627-8000
FAX: (207) 730-5710
INTERNET: www.binax.com