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 sincitial respiratorio (VSR)

Contact your local BD representative for instructions.
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. RSV has also been implicated in severe respiratory infections in the elderly and immunocompromised. More recently, RSV has been identified as causing 20% of “influenza-like” illness in people 15–44 years of age.6

Traditional methods for detection of respiratory viruses have included cell culture and direct fluorescent antibody (DFA). 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.

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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Item</th>
<th>Quantity</th>
<th>Description</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>BD RSV</td>
<td>30</td>
<td>Each device containing a control line of inactivated RSV Devices antigen and a test line of monoclonal RSV antibody on the membrane.</td>
</tr>
<tr>
<td>Extraction Reagent E</td>
<td>4.0 mL</td>
<td>Detergent with 0.2% sodium azide (preservative).</td>
</tr>
<tr>
<td>Control + Swab</td>
<td>1 ea.</td>
<td>Positive Control, detergent-treated RSV infected HEp-2 cells with &lt; 0.1% sodium azide (preservative).</td>
</tr>
<tr>
<td>Control – Swab</td>
<td>1 ea.</td>
<td>Negative Control with &lt; 0.1% sodium azide (preservative).</td>
</tr>
<tr>
<td>DispensTube™ Tubes</td>
<td>30</td>
<td>Tubes for specimen extraction and sample delivery into device.</td>
</tr>
<tr>
<td>DispensTube Tips</td>
<td>30</td>
<td>Tips to filter sample when delivered into device.</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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 (+) swab 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 Controls 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.
**Warning**

H302 Harmful if swallowed. P102 Keep out of reach of children. P264 Wash thoroughly after handling. P301+P312 IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. P501 Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

**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
- Phosphate Buffered Saline (PBS)
- PBS + 0.5% gelatin*
- PBS + 0.5% Bovine Serum Albumin (BSA)
- Veal Infusion Broth (VIB)
- VIB + 0.5% BSA
- Hank’s Balanced Salt Solution
- M4 Media*
- M4-RT Media*
- M5 Media
- Bartels ViraTrans™ Media
- 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. Process specimens and controls as directed below:
   a. For specimens:
      1. Vortex or thoroughly mix specimen. **Do not centrifuge.**
      2. Pipette 250 µL of specimen into **DispensTube** (containing Reagent E).
   b. For Controls:
      1. Add 250 µL of normal saline, to the **DispensTube** tube (containing Reagent E).
      2. Insert control swab and express by rotating swab 6-8 times while pinching tube.
      3. Remove control swab while pinching tube to remove excess fluid from the swab tip.

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

7. Vortex 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**.
   To assure proper delivery, **DispensTube** tubes must be held vertically (approximately one inch from the **BD RSV device sample well**), while gently dispensing one drop at a time, in quick succession.
   **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 EP12-A7 and 42 CFR 493.1202 (c) 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:

Positive and Negative 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.

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.

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, 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 ºC.

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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Specimen Type</th>
<th>n</th>
<th>+/+</th>
<th>–/+</th>
<th>+/–</th>
<th>–/–</th>
<th>Sensitivity (%) (95% CI)</th>
<th>Specificity (%) (95% CI)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Nasopharyngeal Wash</td>
<td>348</td>
<td>129</td>
<td>29</td>
<td>19</td>
<td>171</td>
<td>87.2 (80.7–92.1)</td>
<td>85.5 (79.8–90.1)</td>
</tr>
<tr>
<td>Aspirate</td>
<td>401</td>
<td>90</td>
<td>24</td>
<td>27</td>
<td>260</td>
<td>76.9 (68.2–84.2)</td>
<td>91.6 (87.7–94.5)</td>
</tr>
<tr>
<td>Swab/Wash</td>
<td>160</td>
<td>28</td>
<td>6</td>
<td>11</td>
<td>115</td>
<td>71.8 (55.1–85.0)</td>
<td>95.0 (89.7–98.2)</td>
</tr>
<tr>
<td>Swab</td>
<td>267</td>
<td>20</td>
<td>20</td>
<td>10</td>
<td>217</td>
<td>66.7 (47.2–82.7)</td>
<td>91.6 (87.3–94.8)</td>
</tr>
</tbody>
</table>

(+) = RSV positive (−) = RSV negative

* 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

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

(+) = 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). 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). 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 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 EZ RSV 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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Type</th>
<th>RSV Viral Strain</th>
<th>LOD (TCID50)*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>A</td>
<td>RSV (Long)</td>
<td>3.95 x 10³</td>
</tr>
<tr>
<td>A</td>
<td>RSV (A-2)</td>
<td>7.9 x 10³</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (3320)</td>
<td>4.05 x 10²</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (Washington)</td>
<td>7.03 x 10³</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (Wild-type)</td>
<td>5.56 x 10²</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* 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 pneumoniae was tested at >10⁶ CFU/mL. Mycoplasmal pneumoniae was tested at >10⁶ CFU/mL. Mycobacterium tuberculosis was tested at 7.0 x 10⁶ CFU/mL. Viral isolates were tested at titers between 10³.⁵ to 10⁹.⁵ TCID50/0.2 mL. Influenza viruses were tested at titers of 10³.⁵ to 10⁹.⁵ 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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Species</th>
<th>Strain</th>
<th>TCID50 (Concentration)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Acinetobacter baumannii</td>
<td>(calcoaceticus)</td>
<td>Proteus mirabilis</td>
</tr>
<tr>
<td>Actinobacillus suis</td>
<td></td>
<td>Proteus vulgaris</td>
</tr>
<tr>
<td>Bacteroides fragilis</td>
<td>Lactobacillus fermentum</td>
<td>Pseudomonas aeruginosa</td>
</tr>
<tr>
<td>Borrelia pertussis</td>
<td>Lactobacillus plantarum</td>
<td>Salmonella choleraesuis</td>
</tr>
<tr>
<td>Candida albicans</td>
<td>Legionella pneumophilia</td>
<td>subsp minnesota</td>
</tr>
<tr>
<td>Candida glabrata</td>
<td>Listeria monocytogenes</td>
<td>Serratia marcescens</td>
</tr>
<tr>
<td>Cardiobacterium hominis</td>
<td>Moraxella catarrhalis</td>
<td>Staphylococcus aureus</td>
</tr>
<tr>
<td>Chlamydia psittaci</td>
<td>Mycobacterium avium</td>
<td>Staphylococcus aureus-Cowan</td>
</tr>
<tr>
<td>Chlamydia trachomatis LGVII</td>
<td>Mycobacterium intracellulare</td>
<td>Staphylococcus epidermidis</td>
</tr>
<tr>
<td>Corynebacterium diphtheriae</td>
<td>Mycoplasma pneumoniae</td>
<td>Streptococcus bovis II</td>
</tr>
<tr>
<td>Eikenella corrordes</td>
<td>Mycoplasma orale</td>
<td>Group D</td>
</tr>
<tr>
<td>Enterococcus faecalis</td>
<td>Neisseria gonorrhoeae</td>
<td>Streptococcus mutans</td>
</tr>
<tr>
<td>Enterococcus gallinarum</td>
<td>Neisseria meningitidis</td>
<td>Streptococcus oralis</td>
</tr>
<tr>
<td>Escherichia coli</td>
<td>Neisseria mucosa</td>
<td>Streptococcus pneumoniae</td>
</tr>
<tr>
<td>Fusobacterium nucleatum</td>
<td>Neisseria sicca</td>
<td>Streptococcus pyogenes</td>
</tr>
<tr>
<td>Gardnerella vaginalis</td>
<td>Neisseria subflava</td>
<td>Group A</td>
</tr>
<tr>
<td>Haemophilus aphrophilus</td>
<td>Peptostreptococcus</td>
<td>Streptococcus sanguis</td>
</tr>
<tr>
<td>Haemophilus influenzae</td>
<td>anaerobius</td>
<td>Streptococcus sp. Group B</td>
</tr>
<tr>
<td>Haemophilus parainfluenzae</td>
<td>Porphyromonas</td>
<td>Streptococcus sp. Group C</td>
</tr>
<tr>
<td>Haemophilus paraphrophilus</td>
<td>asaccharolyticus</td>
<td>Streptococcus sp. Group F</td>
</tr>
<tr>
<td>Kingella kingae</td>
<td>Prevotella oralis</td>
<td>Veillonella parvula</td>
</tr>
</tbody>
</table>
Viral Panel

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

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: Phenylephrine at 1 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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Cat. No.</th>
<th>Description</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>256030</td>
<td>BD Directigen™ EZ RSV 30 Test Kit</td>
</tr>
<tr>
<td>220115</td>
<td>BD BBL™ CultureSwab™ Sterile Single Swab, Pkg. of 100</td>
</tr>
<tr>
<td>220131</td>
<td>BD BBL™ CultureSwab™ Liquid Amies, Flexible Aluminum Wire, Pkg. of 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220134</td>
<td>BD BBL™ CultureSwab™ Liquid Stuart, Flexible Aluminum Wire, Pkg. of 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220220</td>
<td>BD™ Universal Viral Transport 3 mL Vial, Ctn. of 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220244</td>
<td>BD™ Universal Viral Transport 1 mL Vial, Ctn. of 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220526</td>
<td>BD™ Universal Viral Transport Kit, 1 mL Vial and a sterile nylon flocked flexible minitip swab, Ctn. of 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220531</td>
<td>BD™ Universal Viral Transport Kit, 3 mL Vial and a sterile nylon flocked flexible minitip swab, Ctn. of 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220532</td>
<td>BD™ ESwab Collection Kit, 1 mL Liquid Amies and a sterile nylon flocked flexible minitip swab, Ctn. of 50</td>
</tr>
<tr>
<td>256034</td>
<td>BD Directigen™ EZ RSV Control Kit, Box of 10</td>
</tr>
</tbody>
</table>

REFERENCES

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 maladies aux fonctions cardiaque ou respiratoire défectueuses 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 du 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 contrôle 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 » contrôle. 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 contrôle d’antigène de RSV inactivé et une ligne réactionnelle d’anticorps monoclonal anti-RSV sur la membrane.

Réactif d’extraction E 4,0 mL Détgergent avec 0,2 % d’azide de sodium (agent conservateur).

Écouvillon de contrôle + 1 Contrôle positif : cellules HEp-2 infectées par RSV et traitées par un détergent, avec < 0,1 % d’azide de sodium (agent conservateur).

Écouvillon de contrôle - 1 Contrôle negatif avec < 0,1% d’azide de sodium (agent 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.

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

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic in vitro.

1. L’écouvillon de contrôle (+) 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 les Contrôles ne donnent pas les résultats escomptés.


4. Ne pas utiliser les composants de la trousse au-delà de la date de péremption.

5. NE PAS mêler de réactifs provenant de troupes portant des numéros de lot différents. Ne pas réutiliser le dispositif.

Attention


Manipulation et conservation : conserver les troupes 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 :

- Normal Saline
- Séréum physiologique normal
- Séréum physiologique tamponné au phosphate (PBS)
- PBS + 0,5 % de gélatine*
- PBS + 0,5 % de séréum albumine bovine (SAB)
- Bouillon d’infusion de veau (VIB)
- VIB + 0,5 % SAB
- Solution saline équilibrée de Hank
- Milieu Bartels ViraTrans
- Phosphate de saccharose (2-SP)

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.
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 séréum 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 puis 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 contrôle 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. Traiter les échantillons et les contrôles suivant la procédure ci-dessous :
   a. Échantillons :
      1. Vortexer ou mélanger soigneusement l’échantillon. **Ne pas centrifuger.**
      2. Distribuer à la pipette 250 µL d’échantillon dans le tube DispensTube (contenant le Réactif E).
   b. Contrôles :
      1. Ajouter 250 µL de sérum physiologique au tube DispensTube (contenant le Réactif E).
      2. Introduire l’écouvillon de contrôle extraire en tournant l’écouvillon 6-8 fois tout en pinçant le tube.
      3. Retirer l’écouvillon de contrôle tout en pinçant le tube pour éliminer l’excès de fluide de l’embout de l’écouvillon.

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. Pour une bonne distribution, tenir les tubes DispensTube verticalement (à environ 2,5 cm de la surface du puits d’échantillon du dispositif BD RSV) et faire tomber rapidement les gouttes une à une.
   **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 contrôle 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 pour plus d’informations sur les modalités de contrôle de qualité.
Chaque dispositif BD RSV comprend des contrôles intégrés. Les contrôles intégrés sont :
Contrôle interne : l’apparition d’une ligne contrôle rouge-pourpre constitue un contrôle antigène interne (contrôle interne positif) qui sert de contrôle réactif pour le conjugué et l’antigène piégé et atteste un débit capillaire suffisant. L’absence de cette ligne indique un test non interprétable.
Contrôle de membrane de test (contrôle interne négatif) : la surface de la membrane non réactive entourant le contrôle 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.
Contrôles positif et négatif externes :
Des contrôles positif et négatif sont également inclus dans chaque trousse. Ces contrôles sont fournis à titre de moyens de contrôle de qualité supplémentaires permettant de mettre en évidence une réaction positive ou négative. Les contrôles 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 contrôle (+) 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 contrôle + ou le contrôle – ne donne pas les résultats escomptés.
Si les résultats obtenus pour les contrôles 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 » contrôle. 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 » contrôle 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 » contrôle ou si la couleur de l’arrière-plan interfère avec la ligne contrôle 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.

RAPPORTER LES RESULTATS

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

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

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

(+): 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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Centre investigator</th>
<th>Type d’échantillon</th>
<th>Culture/EZ</th>
<th>Sensibilité (%) (IC à 95 %)</th>
<th>Spécificité (%) (IC à 95 %)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>n</td>
<td>+/+ –/+ +/– –/–</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Centre 1</td>
<td>50 % NPW</td>
<td>38</td>
<td>100 (71,5–100)</td>
<td>92,6 (83,8–99,4)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>45 % NPA</td>
<td>11</td>
<td>2</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>5 % NPS</td>
<td>2</td>
<td>0</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>Centre 2</td>
<td>100 % NPW</td>
<td>173</td>
<td>78,9 (67,6–87,7)</td>
<td>82,4 (73,6–89,2)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>56</td>
<td>18</td>
<td>15</td>
</tr>
<tr>
<td>Centre 3</td>
<td>59 % NPA</td>
<td>195</td>
<td>85,9 (77,1–92,3)</td>
<td>76,7 (67,3–84,5)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>37 % NPW</td>
<td>79</td>
<td>24</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>4 % NPNS</td>
<td>19</td>
<td>0</td>
<td>19</td>
</tr>
<tr>
<td>Centre 4</td>
<td>100 % NPSW</td>
<td>207</td>
<td>44,4 (13,7–78,8)</td>
<td>91,4 (86,6–94,9)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>17</td>
<td>5</td>
<td>181</td>
</tr>
<tr>
<td>Centre 5</td>
<td>73 % NPSW</td>
<td>219</td>
<td>75,4 (62,7–85,5)</td>
<td>94,9 (90,3–97,8)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>24 % NPS</td>
<td>46</td>
<td>8</td>
<td>15</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>2 % NPW</td>
<td>15</td>
<td>15</td>
<td>150</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1 % NPA</td>
<td>15</td>
<td>15</td>
<td>150</td>
</tr>
<tr>
<td>Centre 6</td>
<td>100 % NPW</td>
<td>77</td>
<td>91,2 (76,3–98,1)</td>
<td>100 (91,8–100)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>31</td>
<td>0</td>
<td>3</td>
</tr>
<tr>
<td>Centre 7</td>
<td>100 % NPA</td>
<td>267</td>
<td>71,4 (57,8–82,7)</td>
<td>95,3 (91,5–97,7)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>40</td>
<td>10</td>
<td>16</td>
</tr>
</tbody>
</table>

(+) = 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 PCRas). 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 PCRas). 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 PCRas).

Reproductibilité : la reproductibilité du test Directigen EZ RSV a été évaluée dans trois centres investigateurs. Le groupe de reproductibilité se composait de 12 échantillons contrôles 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 contrôle négatif. Le groupe comportait également quatre échantillons négatifs pour RSV constitués de diluant contrôle négatif non ensemencé. La 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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Type</th>
<th>Souche virale RSV</th>
<th>LDD (DICT50)*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>A</td>
<td>RSV (Long)</td>
<td>3,95 x 10^3</td>
</tr>
<tr>
<td>A</td>
<td>RSV (A-2)</td>
<td>7,9 x 10^3</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (9320)</td>
<td>4,05 x 10^2</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (Washington)</td>
<td>7,03 x 10^3</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (type sauvage)</td>
<td>5,56 x 10^2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* 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 10^6 CFU/mL. Mycoplasma orale a été testé à une concentration supérieure à 10^7 CFU/mL. Mycoplasma pneumoniae a été testé à une concentration supérieure à 10^6 CCU/mL (CCU – unités de changement de couleur). Mycobacterium tuberculosis a été testé à la concentration de 7,0 x 10^6 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

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

### Groupe des virus

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

### Substances interférantes

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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Médicaments sans ordonnance</th>
<th>Concentration</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Trois bains de bouche à 25 %</td>
<td>Chlorhydrate de diphénhydramine à 5 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Trois produits de gouttes pour la gorge à 25 %</td>
<td>Chlorhydrate de pseudoéphédrine à 20 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Trois pulvérisations nasales à 10 %</td>
<td>Éther glycérique du gaiaco à 20 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>4-acétamidophénol à 10 mg/mL</td>
<td>Ibuprofène à 10 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Acide acétysaliclycique à 20 mg/mL</td>
<td>Oxymétazoline à 0,05 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Maléate de chlorphéniramine à 5 mg/mL</td>
<td>Phényléphrine à 1 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Dextrométhorphan à 10 mg/mL</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

### Médicaments sur ordonnance

<table>
<thead>
<tr>
<th>Médicaments sur ordonnance</th>
<th>Concentration</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Zanamavir à 1 mg/mL</td>
<td>Ribavirine à 500 ng/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Amantadine à 500 ng/mL</td>
<td>Synagis à 0,1 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Rimantadine à 500 ng/mL</td>
<td>Sulfate d'albutérol à 0,083 mg/mL</td>
</tr>
</tbody>
</table>
CONDITIONNEMENT
Réf. Description
256030 Trousse de 30 tests BD Directigen EZ RSV
220115 BD BBL CultureSwab Sterile Single Swab (écouvillon individuel stérile), boîte de 100
220131 BD BBL CultureSwab Liquid Amies, fil souple en aluminium, boîte de 50
220134 BD BBL CultureSwab Liquid Stuart, fil souple en aluminium, boîte de 50
220220 BD Universal Viral Transport, flacon de 3 mL, carton de 50
220244 BD Universal Viral Transport, flacon de 1 mL, carton de 50
220526 BD Universal Viral Transport Kit, un flacon de 1 mL et un écouvillon souple Minitip stérile à embout en nylon floqué, carton de 50
220531 BD Universal Viral Transport Kit, un flacon de 3 mL et un écouvillon souple Minitip stérile à embout en nylon floqué, carton de 50
220532 BD ESwab Collection Kit, 1 mL de milieu Liquid Amies et un écouvillon souple Minitip stérile à embout en nylon floqué, carton de 50
256034 BD Directigen EZ RSV Control Kit, boîte de 10

REFERENCES
Voir la section « References » dans la notice en anglais.
Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD.
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 Reinigungsmittel mit 0,2 % Natriumazid (als Konservierungsmittel).

- **Kontrollabstrichtupfer +** 1 Positive Kontrolle, mit Reinigungsmittel behandelter und mit RS-Virus infizierte HEp-2-Zellen mit < 0,1 % Natriumazid (als Konservierungsmittel).

- **Kontrollabstrichtupfer –** 1 Negative Kontrolle mit < 0,1% Natriumazid (als Konservierungsmittel).

- **DispensTube-Röhrchen** 30 Röhrchen für die Probennahme 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 Arbeitsmateriel:** Pipette (mit Abgabekapazität von 250 µL), Zeitgeber, Vortexmischer und Transportmedien (siehe „Probengewinnung und -handhabung“).

**Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:**

*In-vitro*-Diagnostikum.

1. Das Abstrichtupfer 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. Das Kit nicht verwenden, wenn die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern.


5. Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern NICHT kombinieren. Die Vorrichtung nicht wiederverwenden.

**Achtung**


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

**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.


**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
- Nährboillon-Infus aus Kalb (VIB)
- VIB + 0,5 % Rinderserumalbumin
- Hanks ausgegliche 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*
- BD ESwab

*Medium enthält Gelatine.


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.

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.
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 ºC).
• Alle Proben vor der Entnahme einer Teilmengen 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 eineln 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 plazieren.
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 Proben und Kontrollen 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 (mit Reagenz E) pipettieren.
b. Für Kontrollen:
1. 250 µL physiologische Kochsalzlösung in das DispensTube-Röhrchen (mit Reagenz E) geben.
2. Kontrollabstrichtupfer zugeben und ausdrücken. Dabei Tupfer 6-8 Mal hin und her drehen und gleichzeitig das Röhrchen zusammendrücken.
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. Für die einwandfreie Abgabe sind die DispensTube-Röhrchen senkrecht zu halten (in ca. 2,5 cm Abstand zum Testfeld der BD RSV-Vorrichtung) und die Tropfen behutsam einzeln und rasch hintereinander abzugeben. HINWEIS: Wird das Röhrchen im Spitzenbereich zusammengepreßt, kann dies zum Ausstoßen der Spitze und zum Auslaufen des Röhrcheninhalts führen.

Qualitätskontrolle:
Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätssicherung zu beachten. Es wird empfohlen, daß der Benutzer die Dokumente CLSI EP12-A17 und 42 CFR 493.1202 (c)18 bezüglich Anleitung über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsieht. Jede BD RSV-Vorrichtung enthält eingebaute Kontrollen:
INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Positiver Test (Vorliegen von Antigen) – Im Ergebnisfenster 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.


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 Kontrollinie 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 eingesendet.

BERICHTERGEBNISSE


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.


8. Monoklonale Antikörper erkennen unter Umständen nicht alle Antigen-Varianten oder neuen Stämmen von RSV.


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.


**Klinische Leistung:** Für alle beurteilten Proben betrug die insgesamte 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

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

(*) = 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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Kultur/EZ</th>
<th>Standort n</th>
<th>+/-</th>
<th>-/+</th>
<th>+/-</th>
<th>--/--</th>
<th>Empfindlichkeit (%) (95 % VI)</th>
<th>Spezifität (%) (95 % VI)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Standort 1</td>
<td>50 % NPS 45 % NPA 5 % NPAb</td>
<td>38</td>
<td>11</td>
<td>2</td>
<td>0</td>
<td>25</td>
<td>100 (71,5–100)</td>
</tr>
<tr>
<td>Standort 2</td>
<td>100 % NPS</td>
<td>173</td>
<td>56</td>
<td>18</td>
<td>15</td>
<td>84</td>
<td>78,9 (67,6–87,7)</td>
</tr>
<tr>
<td>Standort 3</td>
<td>59 % NPA 37 % NPS 4 % NPAb</td>
<td>195</td>
<td>79</td>
<td>24</td>
<td>13</td>
<td>79</td>
<td>85,9 (77,1–92,3)</td>
</tr>
<tr>
<td>Standort 4</td>
<td>100 % NPAb</td>
<td>207</td>
<td>4</td>
<td>17</td>
<td>5</td>
<td>181</td>
<td>44,4 (13,7–78,8)</td>
</tr>
<tr>
<td>Standort 5</td>
<td>73 % NPAbS 24 % NPAb 2 % NPS 1 % NPA</td>
<td>219</td>
<td>46</td>
<td>8</td>
<td>15</td>
<td>150</td>
<td>75,4 (62,7–85,5)</td>
</tr>
<tr>
<td>Standort 6</td>
<td>100 % NPS</td>
<td>77</td>
<td>31</td>
<td>0</td>
<td>3</td>
<td>43</td>
<td>91,2 (76,3–98,1)</td>
</tr>
<tr>
<td>Standort 7</td>
<td>100 % NPA</td>
<td>267</td>
<td>40</td>
<td>10</td>
<td>16</td>
<td>201</td>
<td>71,4 (57,8–82,7)</td>
</tr>
</tbody>
</table>

(*) = 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*) 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*) ebenfalls positiv.
(Kultivierung, DFA, EIA, oder PCR) 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) 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.


Analytische Studien

Testempfindlichkeit (Nachweisgrenze)

<table>
<thead>
<tr>
<th>Typ</th>
<th>RS-Virusstamm</th>
<th>LOD (TCID₅₀)*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>A</td>
<td>RS-Virus (Long)</td>
<td>3.95 x 10³</td>
</tr>
<tr>
<td>A</td>
<td>RS-Virus (A-2)</td>
<td>7.9 x 10³</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RS-Virus (9320)</td>
<td>4.05 x 10²</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RS-Virus (Washington)</td>
<td>7.03 x 10³</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RS-Virus (Wildform)</td>
<td>5.56 x 10²</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* 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 10⁶ KBE/ml (CFU KBE = koloniebildende Einheit) getestet. Mycoplasma orale wurde bei >10⁷ KBE/ml getestet. Mycoplasma pneumoniae wurde bei >10⁸ CCU/ml (CCU = Farbumschlageinheiten) getestet. Mycobacterium tuberculosis wurde bei 7,0 x 10⁶ KBE/ml getestet. Virus-Isolate wurden in Tern zwischen 10⁴,⁵ und 10⁹,⁵ TCID₅₀/0,20 ml getestet. Influenzaviren wurden in Tern zwischen 10³,⁵ und 10⁹,⁵ 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

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

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

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.

Rezeptpflichtige Medikamente

Zanamavir (1 mg/mL)  
Amantadin (500 ng/mL)  
Rimantadin (500 ng/mL)

LIEFERBARE PRODUKTE

<table>
<thead>
<tr>
<th>Best.-Nr.</th>
<th>Beschreibung</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>256030</td>
<td>BD Directigen EZ RSV (Kit mit je 30 Tests)</td>
</tr>
<tr>
<td>220115</td>
<td>BD BBL CultureSwab Sterile Single Swab (ein steriler Tupfer), Karton zu 100</td>
</tr>
<tr>
<td>220131</td>
<td>BD BBL CultureSwab Liquid Amies, flexibler Aluminiumdraht, Karton zu 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220134</td>
<td>BD BBL CultureSwab Liquid Stuart, flexibler Aluminiumdraht, Karton zu 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220220</td>
<td>BD Universal Viral Transport 3 mL Fläschchen, Karton zu 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220244</td>
<td>BD Universal Viral Transport 1 mL Fläschchen, Karton zu 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220526</td>
<td>BD Universal Viral Transport-Kit, 1 mL Fläschchen und ein steriler flexibler Abstrichtupfer mit Minispitze aus Nylon-Flockenfasern, Karton zu 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220532</td>
<td>BD Eswab Collection Kit (Entnahme-Kit) 1 mL flüssiges Amies-Medium und ein steriler flexibler Abstrichtupfer mit Minispitze aus Nylon-Flockenfasern, Karton zu 50</td>
</tr>
<tr>
<td>256034</td>
<td>BD Directigen EZ RSV Control Kit, Karton zu 10</td>
</tr>
</tbody>
</table>

LITERATUR

Siehe den Abschnitt „References“ im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung.
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 nasofaringe, 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 virale 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. Il VRS è risultato anche corresponsabile di infezioni respiratorie gravi in soggetti anziani e immunocompromessi. 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.

I metodi tradizionali per l’individuazione dei virus nelle vie respiratorie includono la coltura cellulare e la fissazione degli antitoxine in fluorescenza diretta (DFA). Recentemente, la reazione a catena della polimerasi (PCR) si è dimostrata clinicamente utile per l’individuazione dei virus delle vie respiratorie, incluso il VRS. 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 per prevenire la trasmissione nosocomiale di infezioni ad altri degenere con compromissione delle funzioni cardiache, respiratorie o immunitarie. 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.

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 monolinguato-anticorpo. Questo complesso migrerà 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 “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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Dispositivi</th>
<th>BD RSV</th>
<th>30</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Reagente di estrazione</td>
<td>E 4,0 mL</td>
<td>Detergente con 0,2% di sodio azide (conservante).</td>
</tr>
<tr>
<td>Tampone di controllo +</td>
<td>1</td>
<td>Controllo positivo, cellule HEp-2 infettate con VRS e trattate con detergente, con &lt; 0,1% di sodio azide (conservante).</td>
</tr>
<tr>
<td>Tampone di controllo -</td>
<td>1</td>
<td>Controllo negativo, con &lt; 0,1% di sodio azide (conservante).</td>
</tr>
<tr>
<td>Provette DispensTube</td>
<td>30</td>
<td>Provette per l’estrazione dei campioni e la dispensazione dei campioni nel dispositivo.</td>
</tr>
<tr>
<td>Puntali DispensTube</td>
<td>30</td>
<td>Puntali per la filtrazione del campione dispensato nel dispositivo.</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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 tampone di controllo (+) per RSV e la riga di controllo sul dispositivo BD RSV sono stati preparati usando cellule di coltura di tessuto infettate con VRS e inattivate mediante trattamento con detergente e sonificazione e successivamente analizzate utilizzando procedure di dosaggio biologico.
2. Non usare il kit se i Controlli non danno i risultati attesi.
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.

Attenzione

P301+P312 IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P501 Smaltire il prodotto/recipienti in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

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 Soluzione fisiologica tamponata con fosfato (PBS)
PBS + 0,5% di gelatina* PBS + 0,5% di sieroalbumina bovina (BSA)
Brodo di infuso di vitello (VIB) VIB + 0,5% di BSA
Soluzione salina bilanciata di Hank Terreno minimo essenziale di Earle (EMEM)
Terreno M4* EMEM + 0,5% di BSA
Terreno M4-RT* EMEM + 1% di BSA
Terreno M5 Starplex Multitrans*
Terreno di Bartels ViraTrans BD ESwab
Fosfato di saccarosio (2 cucchiaini) Terreno di trasporto virale universale BD*

*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 flocinati sono stati testati nel corso di studi analitici e riscontrati compatibili con il test Directigen EZ RSV.11 I tamponi con punta in alginito 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.
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 preleverne 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 influenza 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. Trattare i campioni e i controlli secondo la procedura indicata di seguito:
   a. Campioni
      1. Agitare con vortex o mescolare accuratamente. Non centrifugare.
      2. Pipettare 250 µL di campione nella provetta DispensTube (contenente il reagente E).

   b. Controlli
      1. Aggiungere 250 µL di soluzione fisiologica nella provetta DispensTube (contenente il reagente E).
      2. Inserire il tampone di controllo e spremerlo ruotandolo 6-8 volte, comprimendo al contempo la provetta.
      3. Rimuovere il tampone di controllo comprimendo al contempo la provetta per eliminare il liquido in eccesso dalla punta del tampone.

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 estrarre nel pozzetto per campione BD RSV debitamente etichettato.
   Per garantire una corretta dispensazione, mantenere le provette DispensTube in posizione verticale (a circa 2,5 cm dal pozzetto per campione del dispositivo BD RSV), dispensando con attenzione una goccia alla volta in rapida successione.
   NOTA - Comprimendo la provetta vicino al puntale si rischia di espellere il puntale e di causare una fuoriuscita del contenuto della provetta.
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”.

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 e/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 EP12-A3 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 il controllo positivo e negativo, 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.

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

**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 cementografici, 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 faringeei 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 ºC 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

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

(+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 79 campioni sono risultati PCR-positivi.
Tabella 2 - Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ RSV (EZ) rispetto alla coltura cellulare per i siti clinici

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

(+) = 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). 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). 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).

** 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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Tipo</th>
<th>Ceppo virale di VRS</th>
<th>LOD (TCID&lt;sub&gt;50&lt;/sub&gt;)&lt;sup&gt;+&lt;/sup&gt;</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>A</td>
<td>VRS (Log)</td>
<td>3,95 x 10&lt;sup&gt;3&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>A</td>
<td>VRS (A-2)</td>
<td>7,9 x 10&lt;sup&gt;3&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>VRS (9320)</td>
<td>4,05 x 10&lt;sup&gt;2&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>VRS (Washington)</td>
<td>7,03 x 10&lt;sup&gt;3&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>VRS (Wild-type)</td>
<td>5,56 x 10&lt;sup&gt;2&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
</tbody>
</table>

<sup>+</sup> TCID<sub>50</sub> = Dose infettiva di coltura di tessuto in cui il 50% delle cellule sono lirate.

** 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 10<sup>6</sup> CFU/mL. Il Mycoplasma orale è stato analizzato a >10<sup>7</sup> CFU/mL. Il Mycoplasma pneumoniae è stato analizzato a >10<sup>6</sup> CCU/mL (CCU – unità che cambiano colore). Il Mycobacterium tuberculosis è stato analizzato a >7,0 x 10<sup>6</sup> CFU/mL. Gli isolati virali sono stati analizzati a titoli tra 10<sup>3,5</sup> e 10<sup>9,5</sup> TCID<sub>50</sub>/0,20 mL. I virus dell’influenza sono stati analizzati a titoli tra 10<sup>3,5</sup> e 10<sup>9,5</sup> CEID<sub>50</sub>*/0,20 mL. Nessuno dei microrganismi elencati è risultato positivo al test Directigen EZ RSV.

** CEID<sub>50</sub> = Dose infettiva di embrioni di pulcino in cui il 50% degli embrioni sono infettati.
### Pannello di batteri e lieviti

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

### Pannello virale

<table>
<thead>
<tr>
<th>Virus</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Adenovirus, tipo 3</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovirus, tipo 5</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovirus, tipo 7</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovirus, tipo 10</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovirus, tipo 18</td>
</tr>
<tr>
<td>Coronavirus</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievirus, tipo A9 (Griggs)</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievirus, tipo A9 (P.B. Bozek)</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievirus, tipo B5</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievirus, tipo B6</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievirus, tipo A21</td>
</tr>
<tr>
<td>Cytomegalovirus</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovirus, tipo 2</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovirus, tipo 3</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovirus, tipo 6</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovirus, tipo 11</td>
</tr>
<tr>
<td>Virus Herpes Simplex, tipo 1</td>
</tr>
<tr>
<td>Virus Herpes Simplex, tipo 2</td>
</tr>
<tr>
<td>Influenza A (H1N1)</td>
</tr>
<tr>
<td>Influenza A (H3N2)</td>
</tr>
</tbody>
</table>

### 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
  - Pseudoefedrina cloridrato a 20 mg/mL
  - Gliceril-etere guaiacolo a 20 mg/mL
- **Tre preparazioni da banco in gocce per il mal di gola al 25%**
  - Ibuprofene 10 mg/mL
  - Ossimetazolina a 0,05 mg/mL
  - Fenilefedrina a 1 mg/mL
- **Tre spray nasali da banco al 10% 4-acetamidofenolo a 10 mg/mL**
- **Acido acetilsalicilico a 20 mg/mL**
- **Clorfeniramina maleato a 5 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 soffato a 0,083 mg/mL**
DISPONIBILITÀ

<table>
<thead>
<tr>
<th>N. di cat.</th>
<th>Descrizione</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>256030</td>
<td>BD Directigen EZ RSV - 30 test per kit</td>
</tr>
<tr>
<td>220115</td>
<td>BD BBL CultureSwab Sterile Single Swab (tampone singolo sterile), conf. da 100</td>
</tr>
<tr>
<td>220131</td>
<td>BD BBL CultureSwab Liquid Amies, filo flessibile in alluminio, conf. da 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220134</td>
<td>BD BBL CultureSwab Liquid Stuart, filo flessibile in alluminio, conf. da 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220220</td>
<td>BD Universal Viral Transport, flaconcino da 3 mL, conf. da 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220244</td>
<td>BD Universal Viral Transport, flaconcino da 1 mL, conf. da 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220526</td>
<td>BD Universal Viral Transport Kit, un flaconcino da 3 mL e un minitampone sterile flessibile con punta in nylon floccato, conf. da 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220531</td>
<td>BD Universal Viral Transport Kit, un flaconcino da 1 mL e un minitampone sterile flessibile con punta in nylon floccato, conf. da 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220532</td>
<td>BD ESwab Collection Kit, 1 mL di terreno liquido Amies e un minitampone sterile flessibile con punta in nylon floccato, conf. da 50</td>
</tr>
<tr>
<td>256034</td>
<td>BD Directigen EZ RSV Control Kit, conf. da 10</td>
</tr>
</tbody>
</table>

RIFERIMENTI

Vedere la sezione “References” nel testo inglese.
Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD.

BD Directigen EZ RSV
Para a detecção directa do vírus sincicial respiratório (RSV)

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 celer 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 selecionar 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 anticorpo-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 anticorpo 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”.

32
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 extração** 4,0 mL  
  Detergente com azida de sódio a 0,2% (conservante).

- **Zaragatoa de Controlo +** 1  
  Controlo Positivo, células HEp-2 infectadas com RSV e tratadas com detergente, com azida de sódio a < 0,1% (conservante).

- **Zaragatoa de Controlo -** 1  
  Controlo Negativo com azida de sódio a < 0,1% (conservante).

- **Tubos DispensTube** 30  
  Tubos para a extração 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 seção “Colheita e Manipulação das Amostras”).

Advertências e precauções:

**Para uso diagnóstico in vitro**

1. A zaragatoa de Controlo (+) de RSV 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 os Controlos 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.


5. NÃO misture reagentes provenientes de kits com números de lote diferentes. Não reutilize o dispositivo.

Atenção


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**
- **Soro fisiológico tamponado com fosfato (PBS)**
- **PBS + gelatina a 0,5%**
- **PBS + albúmina sérica bovina (BSA) a 0,5%**
- **Meio líquido de infusão de vitela (VIB)**
- **VIB + BSA a 0,5%**
- **Solução de saís equilibrada de Hank**
- **Meio M4**
- **Meio M4-RT**
- **Meio M5**
- **Meio Bartels ViraTrans**
- **Fosfato de sacarose (2-SP)**

*O meio contém gelatina.

Meio líquido de soja **Trypticase** + gelatina a 0,5%*

Meio líquido de soja **Trypticase** + BSA a 0,5%

Meio essencial mínimo de Earle (EMEM)

EMEM + BSA a 0,5%

EMEM + BSA a 1%

EMEM + hidrolisado de lactalbumina a 0,5%

EMEM + hidrolisado de lactalbumina a 1,0%

**CultureSwab** (líquido) de Stuart modificado

**CultureSwab** de Amies (líquido)

Starplex Multitrans*

Meio de Transporte Viral Universal BD*

BD ESwab
Colheita e preparação das amostras: Foi demonstrado que os lavados e aspirados nasofaríngeos são melhores que as zaragatoas nasofaríngeas, constituindo as amostras preferenciais. As amostras aceitáveis para realização de testes com o teste Directigen EZ RSV incluem lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, zaragatoas nasofaríngeas e zaragatoas/lavados nasofaríngeos.

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

Procedimento para a obtenção de lavados nasofaríngeos e zaragatoas/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 zaragatoas podem ser adicionadas a 350 µL–2 mL de meio de transporte.
2. Misture no vortex a zaragatoa e o meio de transporte.
3. Retire a maior quantidade de líquido possível da zaragatoa.
   Nota: Em alternativa, a zaragatoa poderá ficar no tubo.
4. Elimine a zaragatoa 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.

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. 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. Processe as amostras e os controlos 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 (com Reagente E).
b. Para os controlos:

1. Adicione 250 µL de soro fisiológico normal ao tubo *DispensTube* (com Reagente E).
2. Introduza a zaragatoa de controlo e pressione rodando a zaragatoa 6–8 vezes enquanto aperta o tubo.
3. Retire a zaragatoa de controlo enquanto aperta o tubo para remover o excesso de fluido da ponta da zaragatoa.

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. Inverte 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.

Para garantir uma distribuição correcta, os tubos *DispensTube* deverão ser mantidos em posição vertical (a cerca de 2,5 cm do poço de amostras do dispositivo *BD RSV*), enquanto o utilizador coloca suavemente uma gota de cada vez, em sucessão rápida.

**Nota:** Se apertar o tubo próximo da ponta, poderá provocar a ejectão 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, 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 correspondendo 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 reativa 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 positivo negativo 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.

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.
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 imunoensaíos 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 tênues 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 metapneumovírus 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**

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

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

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

(+)= 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). 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). 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).

**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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Tipo</th>
<th>Estirpe viral RSV</th>
<th>LOD (TCID&lt;sub&gt;50&lt;/sub&gt;)*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>A</td>
<td>RSV (Long)</td>
<td>3,95 x 10&lt;sup&gt;3&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>A</td>
<td>RSV (A-2)</td>
<td>7,9 x 10&lt;sup&gt;3&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (9320)</td>
<td>4,05 x 10&lt;sup&gt;2&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (Washington)</td>
<td>7,03 x 10&lt;sup&gt;3&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>RSV (Tipo selvagem)</td>
<td>5,56 x 10&lt;sup&gt;2&lt;/sup&gt;</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* TCID<sub>50</sub> = 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 10<sup>8</sup> UFC/mL. O Mycoplasma orale foi testado numa concentração >10<sup>7</sup> UFC/mL. O Mycoplasma pneumoniae foi testado numa concentração >10<sup>6</sup> UAC/mL (UAC – unidades de alteração de cor). O Mycobacterium tuberculosis foi testado na concentração de 7,0 x 10<sup>6</sup> UFC/mL. Os isolados virais foram testados em títulos entre 10<sup>3.5</sup> a 10<sup>9.5</sup> TCID<sub>50</sub>/0,20 mL. Os vírus influenza foram testados em títulos de 10<sup>3.5</sup> a 10<sup>9.5</sup> CEID<sub>50</sub>**/0,20 mL. Nenhum dos microorganismos listados apresentou um resultado positivo no teste Directigen EZ RSV.

**CEID<sub>50</sub> = Dose infecciosa do embrião de galinha, em que 50% dos embriões são infectados.

Painel de bactérias e fungos

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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Placa</th>
<th>Vírus</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Adenovírus, Tipo 3</td>
<td>Influenza B/GL/1739/54</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovírus, Tipo 5</td>
<td>Influenza B/Hong Kong/5/72</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovírus, Tipo 7</td>
<td>Influenza B/Lee/40</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovírus, Tipo 10</td>
<td>Influenza B/Allen/45</td>
</tr>
<tr>
<td>Adenovírus, Tipo 18</td>
<td>Influenza B/Maryland/1/59</td>
</tr>
<tr>
<td>Coronavírus</td>
<td>Influenza B/Taiwan/2/62</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievírus Tipo A9 (Griggs)</td>
<td>Influenza C/Taylor/1233/47</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievírus Tipo A9 (P.B. Bozek)</td>
<td>Vírus do sarampo</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievírus Tipo B5</td>
<td>Vírus da parotíde</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievírus Tipo B6</td>
<td>Parainfluenza Tipo 1</td>
</tr>
<tr>
<td>Coxsackievírus Tipo A21</td>
<td>Parainfluenza Tipo 2</td>
</tr>
<tr>
<td>Cytomegalovírus</td>
<td>Parainfluenza Tipo 3</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovírus Tipo 2</td>
<td>Rhinovírus tipo 1A</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovírus Tipo 3</td>
<td>Rhinovírus Tipo 2</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovírus Tipo 6</td>
<td>Rhinovírus Tipo 13</td>
</tr>
<tr>
<td>Echovírus Tipo 11</td>
<td>Rhinovírus Tipo 15</td>
</tr>
<tr>
<td>Herpes Simplex Vírus Tipo 1</td>
<td>Rhinovírus Tipo 16</td>
</tr>
<tr>
<td>Herpes Simplex Vírus Tipo 2</td>
<td>Rhinovírus Tipo 37</td>
</tr>
<tr>
<td>Influenza A (H1N1)</td>
<td>Varicella-Zoster Vírus</td>
</tr>
<tr>
<td>Influenza A (H3N2)</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

### 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)

<table>
<thead>
<tr>
<th>Medicamento</th>
<th>Concentração</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Três lavagens orais com medicamentos OTC a 25%</td>
<td>HCl de difenidramina a 5 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Três gotas para orofaringe a 25% de venda livre</td>
<td>HCl de pseudoefedrina a 20 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Três aplicações de spray nasal a 10% de venda livre</td>
<td>Éter glicerílico a 20 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>4-Acetamidofenol a 10 mg/mL</td>
<td>Ibuprofeno a 10 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Ácido acetilsalicílico a 20 mg/mL</td>
<td>Oximetazolina a 0,05 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Maleato de clorfeniramina a 5 mg/mL</td>
<td>Fenilefrina a 1 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Dextrometorfano a 10 mg/mL</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

### Medicamentos com receita médica

<table>
<thead>
<tr>
<th>Medicamento</th>
<th>Concentração</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Zanamavir a 1 mg/mL</td>
<td>Ribavirina a 500 ng/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Amantadina a 500 ng/mL</td>
<td>Synagis a 0,1 mg/mL</td>
</tr>
<tr>
<td>Rimantadina a 500 ng/mL</td>
<td>Sulfato de álbuterol a 0,083 mg/mL</td>
</tr>
</tbody>
</table>

### APRESENTAÇÃO

<table>
<thead>
<tr>
<th>Nº Cat.</th>
<th>Descrição</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>256030</td>
<td>Kit de 30 testes BD Directigen EZ RSV</td>
</tr>
<tr>
<td>220115</td>
<td>BD BBL CultureSwab Sterile Single Swab (zaragatoa única estéril), caixa de 100</td>
</tr>
<tr>
<td>220131</td>
<td>BD BBL CultureSwab Liquid Amies, fio de alumínio flexível, caixa de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220134</td>
<td>BD BBL CultureSwab Liquid Stuart, fio de alumínio flexível, caixa de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220220</td>
<td>BD Universal Viral Transport, frasco de 3 mL, caixa de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220244</td>
<td>BD Universal Viral Transport, frasco de 1 mL, caixa de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220526</td>
<td>BD Universal Viral Transport Kit, um frasco de 1 mL e uma zaragatoa minitip estéril flexível com ponta de fibra de nylon “flocked”, caixa de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220531</td>
<td>BD Universal Viral Transport Kit, um frasco de 3 mL e uma zaragatoa minitip estéril flexível com ponta de fibra de nylon “flocked”, caixa de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220532</td>
<td>BD ESwab Collection Kit, 1 mL de Meio Líquido de Amies e uma zaragatoa minitip estéril flexível com ponta de fibra de nylon “flocked”, caixa de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>256034</td>
<td>BD Directigen EZ RSV Control Kit, caixa de 10</td>
</tr>
</tbody>
</table>

### 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 Tecnico (11) 5185-9961
Registro ANVISA nº 10033430396
Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555 654

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD.
**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 inmunodeprimidos2,3. 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 antígenos 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 enzimoinmunoanálisis (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:

<table>
<thead>
<tr>
<th>Materiales</th>
<th>Cantidad</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Dispositivo BD RSV</td>
<td>Cada dispositivo contiene una línea de control de antígeno del VSR desactivado y una línea de control de antígenos monoclonales anti-VSR en la membrana.</td>
</tr>
<tr>
<td>Reactivo E de extracción</td>
<td>4,0 mL Detergente con azida sódica al 0,2% (conservante).</td>
</tr>
<tr>
<td>Torunda de control +</td>
<td>Control positivo, células HEp-2 infectadas con el VSR y tratadas con detergente, con azida sódica al &lt; 0,1% (conservante).</td>
</tr>
<tr>
<td>Torunda de control -</td>
<td>Control negativo con azida sódica al &lt; 0,1% (conservante).</td>
</tr>
<tr>
<td>Tubos DispensTube</td>
<td>30 Tubos para la recogida y transferencia de muestras al dispositivo.</td>
</tr>
<tr>
<td>Puntes DispensTube</td>
<td>30 Puntes para filtrar las muestras al transferirlas al dispositivo.</td>
</tr>
</tbody>
</table>

**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. La torunda 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 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.

Atención


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 centrificar 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 bovina (BSA) al 0,5%     | EMEM + BSA al 0,5%                            |
| Caldo de infusión de ternera (VIB)          | EMEM + BSA al 1%                              |
| VIB + BSA al 0,5%                            | EMEM + hidrolizado de lactoalbúmina al 0,5%   |
| Solución salina equilibrada de Hank         | EMEM + hidrolizado de lactoalbúmina al 1,0%   |
| Medios M4*                                   | Medio de Stuart modificado (líquido)          |
| Medios M4-RT*                                | CultureSwab                                   |
| Medios M5                                    | Medio de Amies (líquido) CultureSwab           |
| Medios Bartels ViraTrans                     | Starplex Multitrans*                          |
| Fosfato de succosa (2-SP)                    | Medio universal de transporte de virus BD*    |
|                                             | BD ESwat                                      |

*El medio contiene gelatina.

Recogida y preparación de las muestras: Se ha demostrado que las muestras de lavados y aspirados nasofaringeos son superiores a las de torundas nasofaringeas, por lo que constituyen las muestras de elección9,10. Las muestras aceptables para el análisis con Directigen EZ RSV son las muestras de lavados nasofaringeos, aspirados nasofaringeos, torundas nasofaringeas y torundas/lavados nasofaringeos.

Nota: Para las muestras de torundas nasofaringeas 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 nasofaringeos y torundas/lavados nasofaringeos:

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 nasofaringeas:

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 ºC–30 ºC) al utilizarlos para el análisis.
• Mezclar a conciencia todas las muestras antes de extraer una parte alicuota. 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. Procesar las muestras y los controles 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 (que contiene el reactivo E).
   b. Para los controles:
      1. Agregar 250 µL de solución salina normal al tubo DispensTube (que contiene el reactivo E).
      2. Insertar la torunda del control y exprimirla, haciéndola girar de 6 a 8 veces mientras se aprieta el tubo.
      3. Retirar la torunda del control mientras se aprieta el tubo para eliminar el exceso de líquido de la punta de la torunda.

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.
   Para garantizar una transferencia apropiada, los tubos DispensTube deben mantenerse en posición vertical (aproximadamente a 2,5 cm del pocillo de muestras del dispositivo BD RSV) mientras se transfiere el contenido de gota en gota, de forma rápida.
   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 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 incorporados 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 y negativo. 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 (+) indica que la propiedad de unión del antígeno del VSR de la membrana funciona correctamente. No deben informarse los resultados si los controles (+) o (–) no producen los resultados adecuados.

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.

**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 inadequada 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 superiores, torundas nasales, 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.**

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

(+)= 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.

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

(+) = 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). 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). 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 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).

<table>
<thead>
<tr>
<th>Tipo</th>
<th>Cepa de VSR</th>
<th>LOD (TCID50)*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>A</td>
<td>VSR (Long)</td>
<td>3,95 x 10^2</td>
</tr>
<tr>
<td>A</td>
<td>VSR (A-2)</td>
<td>7,9 x 10^3</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>VSR (9320)</td>
<td>4,05 x 10^2</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>VSR (Washington)</td>
<td>7,03 x 10^3</td>
</tr>
<tr>
<td>B</td>
<td>VSR (tipo natural)</td>
<td>5,56 x 10^2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* 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 10^8 UFC/mL. Mycoplasma orale se analizó a una concentración > 10^7 UFC/mL. Mycoplasma pneumoniae se analizó a una concentración > 10^6 UCC/mL (UCC = unidades con cambio de color). Mycobacterium tuberculosis se analizó a una concentración de 7,0 x 10^6 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

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

### 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 Coxackie tipo A9 (Griggs)       | Virus de la gripe C/Taylor/1233/47 |
| Virus Coxackie tipo A9 (P.B. Bozek)   | Virus del sarampión             |
| Virus Coxackie tipo B5                | Virus de la parotiditis         |
| Virus Coxackie tipo B6                | Parainfluenza tipo 1            |
| Virus Coxackie 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 |
| Dextrometorfano, 10 mg/mL |                                   |

### Fármacos de venta con receta

| Zanamavir, 1 mg/mL | Ribavirina, 500 ng/mL |
| Amantadina, 500 ng/mL | Palivilzumab, 0,1 mg/mL |
| Rimantadina, 500 ng/mL | Sulfato de albuterol, 0,083 mg/mL |
### DISPONIBILIDAD

<table>
<thead>
<tr>
<th>Nº ref.</th>
<th>Descripción</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>256030</td>
<td>Kit de 30 análisis <strong>BD Directigen EZ RSV</strong></td>
</tr>
<tr>
<td>220115</td>
<td><strong>BD BBL CultureSwab</strong> Sterile Single Swab (torunda individual estéril), caja de 100</td>
</tr>
<tr>
<td>220131</td>
<td><strong>BD BBL CultureSwab</strong> Liquid Amies, guía de aluminio flexible, caja de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220134</td>
<td><strong>BD BBL CultureSwab</strong> Liquid Stuart, guía de aluminio flexible, caja de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220220</td>
<td><strong>BD Universal Viral Transport</strong>, frasco de 3 mL, caja de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220244</td>
<td><strong>BD Universal Viral Transport</strong>, frasco de 1 mL, caja de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220526</td>
<td><strong>BD Universal Viral Transport Kit</strong>, frasco de 1 mL y torunda estéril de nailon floqueado con punta de tamaño pequeño y flexible, caja de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220531</td>
<td><strong>BD Universal Viral Transport Kit</strong>, frasco de 3 mL y torunda estéril de nailon floqueado con punta de tamaño pequeño y flexible, caja de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>220532</td>
<td><strong>BD ESwab Collection Kit</strong>, 1 mL de medio Liquid Amies y torunda estéril de nailon floqueado con punta de tamaño pequeño y flexible, caja de 50</td>
</tr>
<tr>
<td>256034</td>
<td><strong>BD Directigen EZ RSV Control Kit</strong>, caja de 10</td>
</tr>
</tbody>
</table>

### REFERENCIAS

Véase la sección “References” en el texto inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD.
Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Периодиче стационарных тестов для <n> экстремий / Contenido suficiente para <n> pruebas / Källaddne <n> testslide jack / Contenuto sufficiente per <n> testi / Sadržaj za <n> testova / <n> testa / tészthez szállító / Contenido suficiente para <n> tests / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se bruksanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lageda kasutusjuhendit / Consulter la notice d’emploi / Koristite upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l’uso / Pohľadajte pokyny na používanie / Див. інструкції з використання