



CERTEST RSV CARD
One step RSV Card Test for the detection of
Respiratory Syncytial Virus from nasal specimens

INTENDED USE

The CerTest RSV Card is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Respiratory Syncytial Virus antigens. It can be used directly with nasal swabs or nasal wash or nasal aspirate specimens.

INTRODUCTION

Respiratory Syncytial Virus (RSV) is the most common cause of bronchiolitis and pneumonia among infants and children under 1 year of age. Illness begins most frequently with fever, runny nose, cough, and sometimes wheezing. Severe lower respiratory tract disease may occur at any age, especially among the elderly or among those with compromised cardiac, pulmonary, or immune systems. RSV is spread from respiratory secretions through close contact with infected persons or contact with contaminated surfaces or objects.

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest RSV Card is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of Respiratory Syncytial Virus in nasal samples. The membrane is pre-coated with mouse monoclonal antibodies, on the test band region, against viral antigens. During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-RSV mouse monoclonal antibodies-red microspheres) which was pre-dried on the test. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured conjugate. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a GREEN coloured band always appears. The presence of this GREEN band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Nasal swab specimen:

Collect specimen with a sterile swab from one nostril. Insert the swab approximately 3 cm into the nostril rotating against the nasal wall. Process the swab as soon as possible after collecting the specimen.

Nasal Wash or Aspirate specimen:

For Adult: Place the irrigator up to the nose. Let the sterile saline water run into the nose (2.5 mL). It will run out the opposite side. Tilt and twist the irrigator side to side and up and down directing the water flow into all portions of the nasal cavity. Collect the wash in a clean specimen container, tilt the head forward and allow the water with mucus to run out of the nostril into the specimen container. Repeat the mucus collection for the other nostril and collect it into the same container.

For children: use an aspiration bulb or bulb syringe to instill the saline water into one nostril leaning the children head. Aspirate the mix of mucus-saline water into the bulb and transfer it into a clean container. Repeat for the other nostril and transfer the fluid into the same specimen container.

Samples should be process as soon as possible after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 8 hours prior to testing.

MATERIALS PROVIDED

- Card tests
- Reagent A (saline solution) and Reagent B (sample diluent)
- Testing tubes
- Sterile Swabs
- Disposable pipettes
- Instructions for use

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

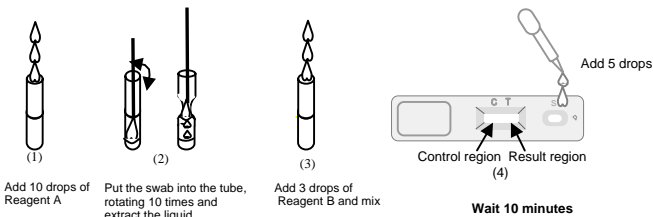
- Disposable gloves
- Timer

TEST PROCEDURE

Allow the tests, swabs and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until ready to perform the assay. Only bring to room temperature the number of tests required to assay before opening it.

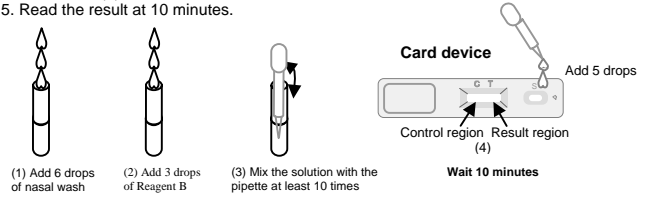
- Procedure A using nasal swab samples:

1. Add 10 drops (1) Reagent A and immediately put the swab into the tube.
2. Mix the solution by rotating the swab forcefully against the side of the tube at least 10 times. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution (2). Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
3. Add 3 drops (3) Reagent B. Mix the solution with the pipette at least 10 times.
4. Remove the CerTest RSV Card device from its sealed bag just before using.
5. Place the test on a flat surface. Use a separate pipette and device for each sample or control. Dispense exactly 5-6 drops or 200 µL from the testing tube, into the circular window marked with an arrow (4).
6. Read the result at 10 minutes.

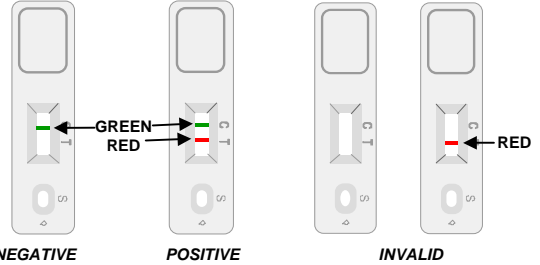


- Procedure B using nasal wash or aspirate samples:

1. Add 6 drops (1) of the nasal wash or aspirate samples with a pipette and 3 drops (2) of Reagent B in a testing tube.
2. Remove the CerTest RSV Card device from its sealed bag just before using. Place the test on a flat surface.
3. Mix the solution with the pipette at least 10 times. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution (3).
4. Dispense exactly 5-6 drops or 200 µL from the testing tube, into the circular window marked with an arrow (4).
5. Read the result at 10 minutes.



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



NEGATIVE: Only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control band, a RED band (test line) also appears in the site marked with the letter T (result line).

INVALID: A total absence of the control coloured band (GREEN) regardless the appearance or not of the result line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A green line appearing in the control region (C) is an internal control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed pack.
2. This test provides a presumptive diagnosis for RSV infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated. It is recommended that negative test results be confirmed by cell culture.
3. The CerTest RSV Test should be used only with nasal swabs, nasal wash and nasal aspirate samples. The use of swab specimens taken from other sites or the use of other samples such as saliva, sputum or urine has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper nasal specimens must be obtained.
4. A negative result may be obtained if the specimen is inadequate or antigen concentration is below the sensitivity of the test.
5. In case the tests did not run due to thick mucus, dispense a drop of sample diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.

PERFORMANCE

Sensitivity

Different virus extract dilutions were tested directly in the sample diluent or spiked in a negative nasal specimen in accordance with the kit instructions. The detection of RSV showed a 95% of concordance in sensitivity with another commercial rapid test.

Specificity

The use of mouse monoclonal antibodies in the elaboration of CerTest RSV Test assures high degree of specificity for the detection of RSV antigens, compared with another commercial rapid test.

REFERENCES

1. ANN R. FALSEY and EDWARD E. WALSH. "Respiratory Syncytial Infection in Adults", *Clinical Microbiology Reviews*, July 2000, Vol. 13, No.3, p. 371-384
2. DIANE C. HALSTEAD, SANDRA TODD, and GALE FRITCH: "Evaluation of Five Methods for Respiratory Syncytial Virus Detection" *Journal of Clinical Microbiology*, May 1990, Vol. 28, No. 5; p. 1021-1025.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	<i>In vitro</i> diagnostic device		Lot code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		For IVD performance evaluation only



CerTest
BIOTEC

María de Luna 11
E-50018 Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es



USO PREVISTO

CerTest RSV Card es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de antígenos del Virus Respiratorio Sincitial. Puede usarse directamente con hisopos nasales o muestras de lavado o aspirado nasal.

INTRODUCCIÓN

El Virus Respiratorio Sincitial es uno de los principales causantes de la bronquiolitis y de la neumonía en niños menores de 1 año. La enfermedad suele comenzar con fiebre, resfriado, tos y con respiración ruidosa. La enfermedad cuando afecta al tracto respiratorio inferior suele ser grave y puede afectar especialmente a personas ancianas o aquellas con problemas cardíacos, pulmonares o del sistema inmune. RSV se contagia a partir de las secreciones respiratorias por contacto directo con personas infectadas o indirecto con superficies u objetos contaminados.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest RSV Card es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de RSV en muestras nasales. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-RSV-microesferas rojas) previamente secados en el test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, una línea de color ROJO aparecerá en la zona de resultados de la membrana. La ausencia de esta línea sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de RSV, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color VERDE (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Muestras de hisopos nasales

Muestras recogidas con un hisopo estéril a partir de la nariz. Introducir el hisopo aproximadamente 3 cm en un lado de la nariz rotándolo contra la pared. Testar el hisopo tan pronto como sea posible después de recoger la muestra.

Muestras lavado o aspirado nasal

Para adultos: Colocar el irrigador en la nariz. Permitir que la solución salina estéril (2.5 mL) lave toda la cavidad nasal y se expulse por el otro lado del introducido. Recoger inclinando la cabeza toda el agua de lavado en un recipiente para muestras limpio. Repetir con el otro lado y recoger el lavado en el mismo recipiente.

Para niños: Usar una jeringa o un gotero para instilar la solución salina en un lado de la nariz inclinando la cabeza del niño. Aspirar la mezcla de agua salina con mocos con la jeringa o gotero y transferir a un recipiente limpio. Repetir con el otro lado de la nariz y transferir el líquido al mismo recipiente.

Las muestras deben ser procesadas tan pronto como sea posible después de la recolección. Las muestras pueden ser almacenadas en el frigorífico (2-4°C) durante 8 horas antes de realizar la prueba.

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Card tests
- Reactivo A (solución salina) y Reactivo B (diluyente de muestra)
- Tubos de ensayo
- Hisopos estériles
- Pipetas de plástico desechables
- Instrucciones de uso

MATERIALES NECESARIOS-NO SUMINISTRADOS

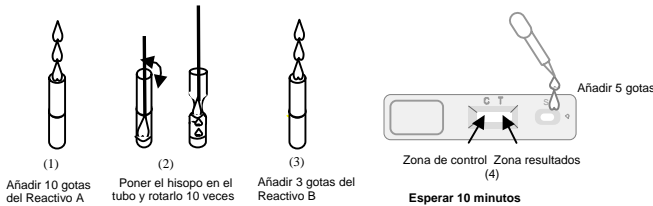
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, los hisopos y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 °C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba y acondicionar sólo el número de tiras que se vayan a utilizar. Pasos a seguir:

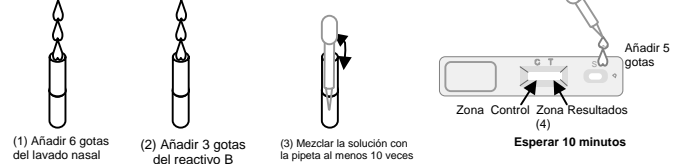
Procedimiento A usando muestra a partir de hisopo nasal:

1. Añadir 10 gotas (1) del Reactivo A y poner inmediatamente el hisopo dentro del tubo.
2. Agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos 10 veces. Se obtendrán mejores resultados si la muestra es extraída de forma vigorosa (2). Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionándolo contra las paredes del tubo. Tirar el hisopo.
3. Añadir 3 gotas del reactivo B (3). Mezclar la solución con la pipeta proporcionada con el test unas 10 veces.
4. Sacar el test de su envase en el momento antes de utilizarlo.
5. Colocar el test en una superficie plana. Usar la pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar 5 o 6 gotas o 125 µL a partir del tubo de ensayo, en la ventana circular marcada con una flecha (4).
6. Leer el resultado a los 10 minutos.

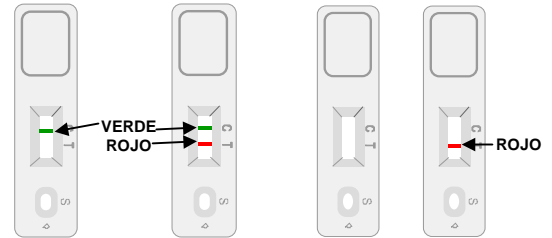


Procedimiento B utilizando lavados o aspirados nasales:

1. Añadir 6 gotas (1) del lavado o aspirado nasal con la pipeta proporcionada con el test y añadir 3 gotas (2) del reactivo B en un tubo de ensayo.
2. Sacar el test de su envase en el momento antes de utilizarlo. Colocar el test en una superficie plana.
3. Mezclar la solución con la pipeta unas 10 veces. Se obtienen mejores resultados si la muestra es extraída vigorosamente (3).
4. Dispensar 5 o 6 gotas o 200 µL a partir del tubo de ensayo, en la ventana circular marcada con una flecha (4).
5. Leer el resultado a los 10 minutos.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado (ROJO). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea roja en la zona de resultado puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto el envase individual el test no debe usarse después de 2 horas.
2. Este test proporciona un diagnóstico de infección por RSV. Para confirmarlo deberían evaluarse por un especialista todos los hallazgos clínicos y de laboratorio. Se recomienda que los resultados negativos sean confirmados mediante cultivo celular.
3. CerTest RSV Test debería utilizarse sólo con hisopos de muestras de nariz o lavados o aspirados nasales. El uso de muestras tomadas de otros sitios o el uso de otras muestras como saliva, esputos u orina no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras nasales.
4. Un resultado negativo puede aparecer si la muestra es inadecuada o la concentración de antígeno está por debajo del límite de sensibilidad del test.
5. En el caso de que el test no funcione debido a una muestra espesa, añadir unas gotas del diluyente de muestra hasta que migre el líquido por la ventana de resultados.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad

Diluciones diferentes de fragmentos del RSV fueron probadas directamente en el diluyente de muestra o en muestras nasales negativas.

La detección de RSV presenta un 95% de concordancia en sensibilidad con un test rápido del mercado.

Especificidad

El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en el diseño de CerTest RSV Test asegura un alto grado de especificidad para la detección de antígenos de RSV, en comparación con otro test rápido del mercado.

BIBLIOGRAFÍA

1. ANN R. FALSEY and EDWARD E. WALSH. "Respiratory Syncytial Infection in Adults", *Clinical Microbiology Reviews*, July 2000, Vol. 13, No.3, p. 371-384.
2. DIANE C. HALSTEAD, SANDRA TODD, and GALE FRITCH: "Evaluation of Five Methods for Respiratory Syncytial Virus Detection" *Journal of Clinical Microbiology*, May 1990, Vol. 28, No. 5; p. 1021-1025.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso		Número de referencia
	Almacenar en lugar seco		Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad		Para evaluación de funcionamiento



CerTest BIOTEC
 María de Luna 11
 E-50018 Zaragoza (SPAIN)
 www.certest.es

