

## CLIA-komplexitet: "Waived"

### AVSEDD ANVÄNDNING

Clearview RSV-testet är avsett för snabb, kvalitativ detektion av Respiratory Syncytial Virus (RSV) fusionsprotein direkt från nasofarynx-pinne, och från nasofarynxaspirat från barn under 6 år och vuxna över 60 år. Testet är avsett som ett hjälpmedel vid snabb laboratoriediagnos av akut RSV infektion hos patienter med symptom för misstänkt RSV-infektion. Vi rekommenderar att negativa testresultat bekräftas med cellodling eller DFA.

### SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

RSV-virus orsakar en ytterst smittsam, akut virusinfektion i luftvägarna. Orsakande agens utgörs av ett enkelsträngat (negativ sträng) RNA-virus som hör till familjen paramyxoviridae. RSV betraktas idag som den vanligaste orsaken till att barn läggs in på sjukhus under sitt första levnadsår. Det utgör också den främsta virusorsaken till nosokomial sjukdom hos barn som redan ligger på sjukhus av någon annan orsak. Hälften av alla spädbarn blir infekterade under sitt första levnadsår. Under det andra levnadsåret har så gott som samtliga varit infekterade.<sup>1</sup> Infektioner som innefattar de nedre luftvägarna medför en dödlighetsprocent på 0,5 %, i synnerhet för för tidigt födda spädbarn och spädbarn med bakomliggande lungsjukdom.

RSV-antigener kan upptäckas i kliniska prover med hjälp av immunoanalys. Clearview RSV-testet utgör en guldmärkt lateralfloödes-

immunoanalys som använder monoklonala antikroppar riktade mot RSV-fusionsproteinantigener (F).

### TESTPRINCIP

Clearview RSV är en immunoguld-kromatografisk analys för direkt visuell detektion av RSV protein F i kliniska prover. Till grund för detektionen av protein F ligger användningen av en rödfärgad guldmärkt monoklonal anti-RSV protein F-antikropp, som efter tillsats av extraherat prov rör sig lateralt längs testremsans membran. Detta laterala flöde för blandningen av prov och guldmärkt anti-RSV protein F genom en monoklonal membranadsorberad anti-RSV protein F-testlinje (T) och därefter genom en membranadsorberad get anti-mus immunoglobulin kontrollinje (C). Om RSV protein F förekommer i kliniska prov binder vätskefas musanti-RSV protein F detta antigen, varefter detta antigen/antikropps-komplex i sin tur binder till testlinjen (T). Obundet eller överflödigt musanti-RSV protein F passerar igenom testlinjen (T) och binds till kontrollinjen (C) av get anti-mus immunoglobulin.

I närvaro av RSV protein F-antigen blir därför två röda linjer synliga: en vid testlinjen (T) och en andra vid kontrollinjen (C). I frånvaro av RSV-antigen uppkommer emellertid endast en röd linje vid kontrollinjen (C).

## REAGENSER OCH MATERIAL SOM INGÅR I FÖRPACKNINGEN

Vilka mängder material och reagenser som ingår beror på kitets storlek (20 eller 40 bestämningar), enligt nedan:

- Individuellt förpackade Clearview RSV-testenheter - 20 för 20 testkit eller 40 för 40 testkit. Ett membran belagt med monoklonal musantikropp specifik för RSV-antigen (fusionsprotein, IgG, 150 000 Daltons), och med kontrollinje antikropp, kombineras med guldmärkt mus anti-RSV i en sandwichtestenhet för lateralt flöde.
- R1 (extraktionsreagenslösning) - 2 ml för 20 tester eller 4 ml för 40 tester: ytaktiv i 0,5-molar MOPS-buffert pH 8,0.
- Extraktionsrör - 20 för 20 tester och 40 för 40 tester.; engångs-testflaskor för blandning av 160 ul patientprov med fyra droppar extraktionsreagens.
- Engångspipetter - 40 för 20 tester eller 80 för 40 tester: kalibrerade överföringspipetter som används för att överföra en specifik mängd (160 ul) patientprov till extraktionsröret, samt för att överföra prov/extraktionsreagensblandningen till testenheten. **Använd endast pipetterna från IBC, eller en alternativ pipett som kan användas för att dosera provvolymen på 160 ul och 240 ul.**

- PC (positiv kontrollreagens) - 1,0 ml för 20 tester eller 1,5 ml för 40 tester: inaktiverad Long strain RSV vid  $3,8 \times 10^5$  pfu/ml i extraktionsreagens.
- NC (negativ kontrollreagens) - 1,0 ml för 20 tester eller 1,5 ml för 40 tester: Extraktionsreagenslösning.
- Bruksanvisning (1)

## MATERIAL SOM INTE INGÅR I FÖRPACKNINGEN

- Provbehållare
- Timer eller klocka
- Steril normal saltlösning
- Aspirationskolv
- Vortex mixer eller annan blandningsenhet
- Sterila nasofarynxpinnar (se avsnittet PROVTRANSPORT OCH -FÖRVARING)

## VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSANVISNINGAR

- Clearview RSV-testet är avsett för diagnostiskt användning *in vitro*.
- Den positiva kontrollen (PC) tillverkas med Clorox inaktiverat RSV, och ska hanteras som potentiellt smittsam.
- Använd inte kitinnehållet efter det sista användningsdatum som står

angivet på förpackningens utsida och på de separata komponenterna.

- Tillämpa lämpliga försiktighetsåtgärder mot mikrobiella risker vid provtagning och vid hantering, förvaring och kassering av patientprover och använt kitinnehåll.<sup>2</sup> Kassera använt material i en lämplig behållare för biologiskt riskmaterial eller för vassa föremål. Patientprover ska hanteras som potentiellt smittsamma.
- Testenheten måste vara kvar i den skyddande foliepåsen tills den ska användas.
- R1, PC och NC innehåller en detergentlösning. Spola med mycket stora mängder vatten om lösningen kommer i kontakt med hud eller ögon.
- För att få korrekta resultat måste du tillämpa den testrutin som redovisas i bruksanvisningen.
- För att få korrekt resultat måste man använda rätt slags nasofarynxpinnar och rekommenderade transportmedia.
- Alla överföringspipetter och testflaskor utgör engångsartiklar - använd dem inte mer än en gång.

## KITFÖRVARING OCH -STABILITET

Förvara kitet i kyl eller vid rumstemperatur (2...30 °C). Undvik direkt solljus. Kitinnehållet är stabilt fram till det sista användningsdatum som anges på förpackningen och på innehållet i förpackningen. Frys inte. Ta ut testenheten ur foliepåsen aldeles

innan den ska användas.

## PROVTAGNING

### Prov som tagits med nasofarynxpinne:

Ta ett prov med en nasofarynxpinne genom att föra in den sterila bomullstoppen i den näsborre som verkar ha den mest omfattande sekretionen vid en visuell kontroll. Tryck in bomullstoppen med en lätt rotation tills ett motstånd kan kännas vid concha nasalis (mindre än två och en halv centimeter in i näsborren). Vrid bomullstoppen några gånger mot näsväggen. Nasofaryngealproven ska placeras i som mest 3 ml vanlig saltlösning eller transportmedium före testningen. Vi rekommenderar att virustransportmediet eller saltlösningen begränsas till en total volym på högst 3 ml. Som nasofarynxpinnar rekommenderas sådana med med Dacron™-polyester eller rayon topp och med aluminiumskaft. Se avsnittet PROVTRANSPORT OCH -FÖRVARING för information om lämpliga provtagningspinnar.

### Nasalaspirationsförfarande för äldre barn och vuxna:

Fyll en aspirationskolv eller kolvspruta med 2,0-2,5 ml steril saltlösning. För in spetsen på kolven i näsborren tills näsborren tätat kring kolven och instillera saltlösningen i en näsborre med huvudet bakåtlutad. Släpp trycket på kolven för att aspirera provet in i kolven. För över provet till en ren, torr provbehållare. Upprepa för den andra näsborren och samla upp vätskan i samma provbehållare.

## För yngre barn:

Barnet ska sitta i förälderns knä vänt framåt, med ryggen mot förälderns bröstorg. Föräldern ska hålla en arm kring barnet på ett sätt som håller fast barnets kropp och armar.

Fyll aspirationskolven eller kolvsprutan med 1,5-2,0 ml steril saltlösning (beroende på barnet ålder). För in kolvspetsen i näsborren tills näsborren tätat kring kolven och instillera saltlösningen i den ena näsborren med huvudet tillbakalutat. Släpp trycket på kolven för att aspirera provet in i kolven. För över provet till en ren, torr provbehållare. Upprepa sedan samma rutin med den andra näsborren och samla upp vätskan i samma provbehållare.

Nasalaspiratvolymerna på 3 till 5 ml rekommenderas. Alltför stora provvolymerna kan leda till försämrade testprestanda. Om virustransportmedium tillsätts till provet ska den totala volymen begränsas till högst 5 ml. Testa provet enligt anvisningarna i avsnittet "Testförfarande".

## PROVTRANSPORT OCH -FÖRVARING

Prov måste testas så snart som möjligt efter provtagningen. Prov kan förvaras i kyl (2...8 °C) i en ren, torr och försluten behållare i upp till 48 timmar, eller frysta vid en temperatur på -70 °C i upp till en vecka före testning. **Centrifugera inte provet innan det används med RSV-testenheten, eftersom avlägsnande av cellmaterial inverkar negativt på testets känslighet.** Eftersom RSV utgör en ytterst termolabil organism måste man iaktta stor omsorgsfullhet vid provtagning och provtransport med avseende på tid, temperatur och användning av rekommenderat transportmedia. Följande transportmedia har testats och funnits vara kompatibla med Clearview RSV-testet:

Steril, normal saltlösning  
Fosfatbuffrad koksaltlösning  
PBS plus 0,5 % gelatin  
PBS plus 0,5 % bovint serumalbumin (BSA)  
Viral Culturette™ (idealiskt för testning av ett negativt resultat)  
Kalvinfusionsbuljong (VIB)  
VIB plus 0,5 % BSA  
Earles Minimal Essential Medium (EMEM)  
EMEM med laktalbumin hydrolysat  
Tripticase™-sojabuljong plus 0,5 % gelatin  
M5-media  
Microgent™/bomullstoppskombo i M4-media från MicroTest (idealisk för testning av ett negativt resultat). Detta bomullstopp- och transport- mediakit användes vid kliniska prestandastudier för Clearview RSV.

## KVALITETSKONTROLL

### Inbyggda kontrollfunktioner för förfarandet

Clearview RSV-testet innehåller inbyggda kontrollfunktioner för förfarandet. Tillverkarens rekommendationer när det gäller de dagliga kontrollerna är att dokumentera dessa inbyggda kontrollfunktioner för förfarandet för varje testat prov. Resultatformatet med en eller två linjer gör det lätt att tolka negativa eller positiva resultat. Uppträdandet av en rosa eller röd förfarandekontrollinje (C) möjliggör flera former av förfarandekontroll genom att visa att kapillärflödet varit tillräckligt och att testenhetens funktionsintegritet har vidmakthållits. **Om den rosa till röda förfarandekontrollinjen (C) inte har utvecklats efter 15 minuter ska testresultatet betraktas som ogiltigt.** I så fall

ska testförfarandet ses över och testet återupprepas med en ny testenhet.

## Extern kvalitetskontroll

Vi rekommenderar att externa kontroller används för att påvisa att reagenserna och analysförfarandet fungerar korrekt.

Externa positiva och negativa kontrollreagenser (PC och NC) levereras i testkiten. De ska testas genom tillsats av sex (6) droppar PC eller NC till provfönstret (S) på testenheten varefter testet får utveckla sig enligt beskrivningen i avsnittet TESTFÖRFARANDEN. **PC- och NC-flaskorna måste virvlas eller vändas lätt två gånger innan de används.** Dessa kontroller måste testas för varje ny sats eller leverans (20 och 40 testkit) och för varje ny operatör. Ytterligare kontrolltester kan erfordras för att uppfylla riktlinjer eller krav i lokala, regionala eller statliga föreskrifter eller hos ackrediteringsorganisationer. Vi rekommenderar att användaren använder NCCLS EP-12A<sup>8</sup> och 42 CFR 493.1202(c) som vägledning för lämpliga förfaranden för kvalitetskontroll. De externa positiva och negativa kontrollerna är avsedda att upptäcka mer betydande reagensfel. Den positiva kontrollen utmanar inte analysen vid cut-off.

Upprepa testet eller kontakta distributörens tekniska support före test av patientprov om kontrollerna inte uppträder på avsett sätt. **Om kontrollerna inte fungerar på avsett sätt ska testresultat inte rapporteras till beställande kliniker.**



Positiv



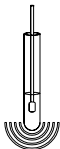
Negativ



Ogiltig

## TESTUTFÖRANDEN

Sista användningsdatum: Kontrollera den sista användningsdagen för varje enskild testförpackning innan den används (på folieförpackningen eller den yttre förpackningen). *Använd inte något test efter det sista användningsdatum som anges på etiketten.*

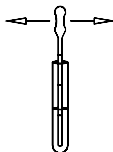


### Utförande med nasofarynxpinnar

1. Virvla eller skaka bomullstoppen och transportmediet eller saltlösningen i 15-20 sekunder för att lösgöra provet från bomullstoppen.



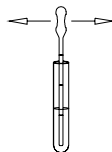
2. Rulla bomullstoppen mot insidan av transportröret eller provbehållaren när du tar ut den. Kassera den använda bomullstoppen i enlighet med era föreskrifter för kassering av biologiskt riskmaterial.



3. Sug upp 160 uL (den andra markeringen) av provet i en engångspipett.

4. Tillsätt hela innehållet i pipetten till extraktionsröret.

5. Håll flaskan lodrätt över extraktionsröret och tillsätt fyra (4) **fritt fallande** droppar R1 till röret.



6. Virvla extraktionsröret försiktigt för att blanda provet och R1.

7. Sug upp hela innehållet i extraktionsröret i en ren engångspipett.

8. Tryck ut hela innehållet i pipetten droppe för droppe i provbrunnen på testenheten.

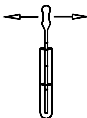


9. Testresultatet ska läsas av mellan femton (15) och tjugofem (25) minuter efter det att det extraherade provet applicerats på testenheten. Resultat som lästs av utanför det rekommenderade tidsintervallet ska betraktas som ogiltiga.

#### Utförande med Nasalaspirat



1. Skaka lätt med en rotationsrörelse, eller virvla provet, för att lösa upp cellmaterial i provet.



2. Fyll engångspipetten till den andra markeringen (160 ul) med nasalaspiratprovot.



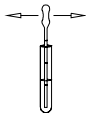
3. Tillsätt hela innehållet i engångspipetten till extraktionsröret.



4. Håll flaskan lodrätt över extraktionsröret och tillsätt fyra (4) fritt fallande droppar R1 till röret.



5. Virvla extraktionsröret försiktigt för att blanda provet och R1.



6. Sug upp hela innehållet i extraktionsröret i en ren engångspipett.



7. Tryck ut hela innehållet i pipetten droppe för droppe i provbrunnen på testenheten.



8. Testresultatet ska läsas av femton (15) till tjugofem (25) minuter efter tillsatsen av det extraherade provet till testenheten. Resultat som lästs av utanför det rekommenderade tidsintervallet ska betraktas som ogiltiga.

#### Positivt resultat:

Ett positivt prov indikeras av uppkomsten av **TVÅ** rosa till röda linjer - en vid utförandekontrollinjen (C) och en vid testlinjen (T). De indikerar förekomsten av syncytisk respiratorisk virusantigen. En rosa till röd testlinje ska - även om den bara är en aning rosa - betraktas som ett belägg för ett positivt test. Resultat som läses av när mer än 25 minuter har gått är ogiltiga. Provet ska då testas om. **Rapporterade resultat:** Positivt för närvaron av RSV-antigen. Ett positivt resultat kan uppkomma vid närvaro av såväl viabla som icke-viabla virus.

### **Negativt resultat:**

Negativa prover indikeras av uppträdandet av **ENDASTEN** rosa till röd linje vid utförandekontrollinjen (C), och ingen rosa till röd linje vid testlinjen (T). Provet är då negativt för RSV-virusantigen. Resultat som läses av senare än 25 minuter är ogiltiga. Provet ska då testas om. **Rapporterade resultat:** Negativt för förekomsten av RSV-antigen. Infektioner orsakade av RSV kan inte uteslutas eftersom det antigen som föreligger i provet kan ligga under detekteringsgränsen för testet. Vi rekommenderar att negativa prover bekräftas med cellodling eller DFA.

### **Ogiltigt resultat:**

Om den rosa till röda utförandekontrollinjen (C) inte har uppkommit efter 15 minuter ska resultatet betraktas som ogiltigt. Om testet betraktas som ogiltigt till följd av att kontrollinjen inte visar sig, ska testet upprepas med en ny testenhet.

Inom 15 minuter ska testområdet vara vitt till ljusrosa och medge tydlig tolkning av testresultatet. **Om bakgrundsfärgen ligger kvar, och inverkar störande på tolkningen av testresultatet, ska resultatet betraktas som ogiltigt.** I så fall ska testförfarandet ses över och testet återupprepas med en ny testenhet.

Om testresultatet är ogiltigt också efter upprepning med en ny testenhet ska hela testet betraktas som ogiltigt.

**Om resultaten är ogiltiga ska inga resultat rapporteras till beställande kliniker.**

## **BEGRÄNSNINGAR**

Tabell 8 redovisar detekteringsgränserna för Clearview RSV.

Innehållet i detta kit ska användas för kvalitativ detektion av RS- virusantigen från nasofarynxpinnar och nasala aspiratprover.

Underlåtenhet att tillämpa testförfarandet eller anvisningarna för tolkning av resultatet kan inverka negativt på testets prestanda och/eller göra testresultatet ogiltigt.

Testresultaten måste utvärderas i kombination med andra kliniska data som finns tillgängliga för läkaren.

Ett negativt testresultat kan uppkomma om antigenhalten i ett prov ligger under testets detekteringsgräns, eller vid felaktigt provtagning och provförvaring.

Färska prover är att föredra framför frusna vid RSV-testning, till följd av virusets höggradigt termolabila och ömtåliga karaktär. Testprestanda kan bli suboptimalt om frusna prover används.

Ett negativt testresultat utesluter inte andra mikrobiella infektioner i luftvägarna.

Denna analys korsreaktivitet med humant metapneumovirus har inte studerats.

Monoklonala antikroppar detekterar eventuellt inte alla antigena varianter eller nya RSV-stammar.

Utför inte testning med provet och/eller kitet vid en temperatur på 4 °C. Kitets prestanda kan försämrats om provet och/eller kitet inte rumstempererats före testningen.

Testning av låga halter RSV vid hög luftfuktighet vid rumstemperatur kan reducera testets förmåga att detektera RSV.

Testning med totala provvolymen som är mindre än eller större än den rekommenderade volymen kan reducera testets förmåga att detektera låga halter RSV.

Positiva resultat med låga halter visualiseras eventuellt inte korrekt under 30 % av "normalt" belysningsförhållanden för arbetsbänkar.

## **FÖRVÄNTADE VÄRDEN**

Den positivitetsgrad som detekteras vid RSV-testning varierar beroende på årstid, patientens ålder och den lokala sjukdomsprevalensen<sup>1</sup>. I tempererade klimat uppträder RSV-infektioner i första hand i form av årliga epidemier som toppar under vintermånaderna<sup>4</sup>. RSV är en vanlig patogen hos spädbarn och yngre barn<sup>5</sup>. Den kan emellertid förorsaka allvarliga sjukdomar i de nedre luftvägarna i alla åldrar, och i synnerhet hos äldre och hos personer med nedsatt immunförsvar<sup>6-7</sup>. Tabellen nedan sammanfattar demografiska ålders- och könssdata, med antalet prover inom varje åldersgrupp och den procentuella positiviteten för de kliniska prover som testats med Clearview RSV. I tabellen ingår totalt 180 patienter för vilka åldern redovisades med provet. Av dessa framgick patientens kön för 92 av proverna. Se tabell 1 nedan.

**Tabell 1: Patientdemografi**

Patient ålder	M:K	N	% Positiva Clearview resultat
2d-1 m	2:2	12	5/12=41,6%
1-2 m	2:2	8	4/8=50%
2m-6 år	22:12	112	30/112=26,7%
51-60 år	1:1	2	0/2=0%
61-70 år	2:7	9	3/9=33,3%
71-80 år	1:6	7	0/7=0%
81-90 år	7:6	13	2/13=15,5%
91-100 år	6:11	17	2/17=11,7%

**N = totalt antal patientprover inom varje ålderskohort**

Av de 17 patienter vilkas åldrar inte hade registrerats redovisades 68,7 % som positiva med Clearview RSV och 62,5 % som positiva av referensmetoden. Nio patienter vilkas åldrar angivits som "över 60" placerades i åldersgruppen 61-70 år.

## CLIA-ÖVERVÄGANDEN

Detta är ett så kallat "waived" test enligt definitionen i Clinical Laboratory Improvement Amendments från år 1988 (CLIA), förutsatt att det används i enlighet med anvisningarna i denna förpackningsbilaga.

Eventuella ändringar som laboratoriet gör med avseende på testsystemet eller dess anvisningarna, leder till att detta test inte längre uppfyller kraven för kategorisering "waived". Ett förändrat test betraktas som ett med hög komplexitet och är föremål för tillämpliga CLIA-krav. Laboratoriet ska upplysa Wampole Laboratories om eventuella prestanda, uppfattade eller validerade, som inte uppfyller de prestandaspecifikationer som framgår av anvisningarna.

I enlighet med CLIA-föreskrifterna har såväl kundprecisionsstudier (Consumer Precision Studies) som kundnoggrannhetsstudier (Consumer Accuracy Studies) utförts, för att visa att användning av lekmän, utan formell laboratorieutbildning, kan läsa anvisningarna i förpackningsbilagan och utföra testet med en höggradig överensstämmelse med resultaten för utbildade laboranter. Testerna för kundprecisionsstudie utfördes med 90 pinnprover med negativa halter (0 pfu/ml RSV), LOD (1,9 x 10<sup>5</sup> pfu/ml RSV) och medelpositiva halter (kommersiell positiv kontrollkit vid 3,8 x 10<sup>5</sup> pfu/ml RSV).

Inga signifikanta skillnader kunde konstateras mellan lekmananvändarna och de utbildade laboranterna (kundnoggrannhetsstudien) eller mellan lekmananvändarna inom varje geografisk plats respektive för de tre olika platserna (kundprecisionsstudien).

En sammanfattande tabell för kundnoggrannhetsstudien och kundprecisionsstudien återfinns nedan (**tabell 2**).

## PRESTANDA

Erhållna prestanda för Clearview RSV-testet jämfördes med vävnadsodling, EIA och Direct Fluorescent Antibody (DFA) i en prospektiv klinisk multicenter fältstudie i dels den amerikanska

**Tabell 2: CLIA-kundprecisions/ kundnoggrannhetsstudier**

Medverkande	Frekvenser för testresultat med 95 % konfidensintervall					
	Negativa		Detektionsgräns		Medelpositiva	
	%+ Test	%- Test	%+ Test	%- Test	%+ Test	%- Test
<b>Lekmän (Tre platser)</b>	0 % 0/90 (0,0 - 4,1 %)	100 % 90/90 (95,9 - 100 %)	94,4 % 85/90 (87,6 - 97,6 %)	5,5 % 5/90 (2,4 - 12,4 %)	100 % 90/90 (95,9 - 100 %)	0 % 0/90 (0,0 - 4,1 %)
<b>Laboranter (Tre platser)</b>	0 % 0/90 (0,0 - 4,1 %)	100 % 90/90 (95,9 - 100 %)	96,7 % 87/90 (90,7 - 98,9 %)	3,3 % 3/90 (1,1 - 9,3 %)	100 % 90/90 (95,9 - 100 %)	0 % 0/90 (0,0 - 4,1 %)

mellanvästern, och dels i Ontario i Kanada, under influensasäsongen 2002. Vid denna undersökning jämfördes Clearview RSV-testet med DFA vid de två institutionerna i USA respektive med Tissue Culture och EIA vid en institution i Kanada. Studien omfattade 197 nasalaspirat- och nasofarynx pinnprover som tagits på patienter symptomatiska för RSV-infektion. Alla prover delades för att medge testning av samma prov med såväl Clearviewmetoden som referensmetoden (vävnadsodling och EIA vid institutionen i Kanada respektive DFA vid institutionerna i USA). Patienterna var i åldrarna från 2 dagar till 100 år. Provtypen i USA utgjordes av nasofaryngxpinnar och aspirat. Provtypen i Kanada utgjordes enbart av nasofarynxpinnar.

### Data från USA

Sammanlagt 104 prover testades i USA. Av dessa utgjordes 90 av nasalaspirat och 7 av nasofaryngxpinnar. För de återstående 7 proven angavs inte provtypen. Samtliga de 104 prover som testades i USA jämfördes med DFA som referensmetod - se tabell 3.

**Tabell 3: USA: Clearview RSV jämfört med DFA**

		DFA-resultat	
		Pos	Neg
Clearview-resultat	Pos	42	2
	Neg	3	57

Positiv överensstämmelse:  $42/45 = 93,3\%$  (95% KI = 80,7-98,6 %)

Negativ överensstämmelse:  $57/59 = 96,6\%$  (95% KI = 88,3 - 99,6%)

En undergrupp i USA data, de 90 proverna som avsåg nasal aspirat, redovisas i Tabell 4.

**Tabell 4: USA: Nasalaspiratprov - Clearview RSV jämfört med DFA**

		DFA-resultat	
		Pos	Neg
Clearview-resultat	Pos	35	2
	Neg	2	51

Positiv överensstämmelse:  $35/37 = 94,6\%$  (95 % KI = 81,8-99,3 %)

Negativ överensstämmelse:  $51/53 = 96,2\%$  (95 % KI = 87,7-99,3%)

OBS: De 7 prover för vilka provtypen inte angivits och de 7 nasofaryngx pinnproverna i USA-materialet, har inte fördelats på separata tabeller, utan ingår i tabell 2. Av de 7 proven som angivits som nasofaryngx pinnprover i USA-materialet var 3 positiva och 4 negativa, och det förelåg en positiv överensstämmelse på 100 % och en negativ överensstämmelse på 100 % vid jämförelsen med DFA.

### Data från Kanada

Sammanlagt 93 prover testades i Kanada. Samtliga utgjorde nasofarynx pinnprover. Som referenstester för 92 av dessa prover användes såväl vävnadsodling som EIA. För ett av proverna användes

endast EIA som referenstest. Prestandadata för Clearviewmetoden jämförd med de två referensmetoderna framgår av tabellerna 5 och 6.

**Tabell 5: Clearview RSV jämfört med vävnadsodling i Kanada (alla prover är nasofarynx pinnprover)**

		Vävnadsodling resultat	
		Pos	Neg
Clearview-resultat	Pos	10	10
	Neg	0	72

Känslighet:  $10/10 = 100\%$  (95 % KI = 69,2 - 100 %)

Specificitet:  $72/82 = 87,8\%$  (95 % KI = 80,7 - 94,9 %)

**Tabell 6: Clearview RSV jämfört med EIA i Kanada (alla prover är nasofarynx pinnprover)**

		EIA-resultat	
		Pos	Neg
Clearview-resultat	Pos	20	1
	Neg	1	71

Positiv överensstämmelse:  $20/21 = 95,2\%$  (95 % KI = 76,2- 99,9 %)

Negativ överensstämmelse:  $71/72 = 96,6\%$  (95 % KI = 92,5-99,9 %)

## Sammanfattning av kliniska data för samtliga institutioner

**Samtliga prover vid samtliga institutioner:** Sammanlagt testades 197 prover - 104 i USA och 93 i Kanada:

Total positiv överensstämmelse = 93,9 % (95 % KI = 85,4-97,6 %)

Total negativ överensstämmelse = 97,7 % (95 % KI = 93,5-99,2 %)

**Nasofarynxpinnar:** Sammanlagt testades 100

prover - 7 i USA och 93 i Kanada:

Total positiv överensstämmelse = 95,8 % (95 % KI = 79,8-99,3 %)

Total negativ överensstämmelse = 98,7 % (95 % KI = 92,9-99,8 %)

**Nasalaspirat:** Sammanlagt testades 90 prover i USA.

Positiv överensstämmelse: = 94,6 % (95 % KI = 81,8 - 99,3 %)

Negativ överensstämmelse: = 96,2 % (95 % KI = 87,7 - 99,3%)

**OBS:** För 7 av de prover som testades i USA angavs inte provtypen. Dessa prover är inte med i den uppdelade redovisningen för nasofarynx pinnprovrens prestanda (N = 100), respektive nasalaspiratprovrens prestanda (N = 90). Dessa 7 prover är emellertid medtagna i den sammantagna redovisningen av prestandadata för samtliga prover vid samtliga institutioner (N = 197) och i tabellen med samtliga data för USA (tabell 2).

## ANALYTISK SPECIFICITET OCH KORSREAKTIVITET

De bakterie- och virusorganismer som redovisas nedan användes för att bedöma korsreaktiviteten för Clearview RSV-testet.

Korsreaktivitet kunde inte konstateras för någon av de testade organismerna. Testningen utfördes i form av tre upprepade tester. (Se tabellerna 7 och 8.)

**Tabell 7: Bakterier**

Testad organism	Stam/referens	Slutlig koncentration på testenheten	Resultat	
			RSV-interferens	Mikrob
Candida Albicans	10231	5,0 x 10 <sup>6</sup> org/ml**	3/3 pos	3/3 neg
Chlamydia psittaci	VMLCPS0427	2,0 x 10 <sup>7</sup> ink/ml***	3/3 pos	3/3 neg
Chlamydia trachomatis	VML CT 092801	2,0 x 10 <sup>6</sup> ink/ml	3/3 pos	3/3 neg
Haemophilus influenzae	10211	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Klebsiella pneumoniae	13883	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Mycoplasma pneumoniae	15531	2,6 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml *	3/3 pos	3/3 neg
Neisseria meningitidis	13090	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Pseudomonas aeruginosa	9027	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Serratia liquifans	27592	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Staphylococcus aureus	25923	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Staphylococcus aureus	Cowan	3,0 x 10 <sup>8</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Staph epidermidis	12228	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Strep pneumoniae	Vild stam	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Streptococcus sp gr A	12384	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Streptococcus sp gr F	12392	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg
Streptococcus sp gr G	12394	5,0 x 10 <sup>7</sup> org/ml	3/3 pos	3/3 neg

\*Cowanstammen för *Staphylococcus aureus* är en proteinA-producerande stam. Den uppvisade inte någon korsreaktivitet med RSV.

\*\*org/ml = organismer/ml

\*\*\*ink/ml = inklusioner/ml

**Tabell 8: Virus**

Testorganism	Stam/referens	Slutlig koncentration på testenheten	Resultat	
			Clearview RSV-interferens	Mikrob
Adenovirus 5	VR-5	1,0 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml	3/3 pos	3/3 neg
Adenovirus 7	VR-7	1,0 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml	3/3 pos	3/3 neg
Adenovirus 2	VR-846	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Coxsackie A19	VR-1015	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Coxsackie B1	VR-28	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Coxsackie B3	VR-30	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Cytomegalovirus	AD-169	8,8 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml	3/3 pos	3/3 neg
Poliovirus	VR-1004	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Ekovirus 6	VR-36	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Ekovirus 11	VR-41	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
HSV typ 1	VR-6143	3,3 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml	3/3 pos	3/3 neg
HSV typ 2	VR-15671	3,3 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml	3/3 pos	3/3 neg
Influensa A	N1H1	9,2 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml	3/3 pos	3/3 neg
Influensa B	Beijing	5,9 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml	3/3 pos	3/3 neg
Parainfluensa 1	VR-105	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Parainfluensa 2	VR-92	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Parainfluensa 3	VR-93	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Rhinovirus 1B	VR-1366	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Rhinovirus 39	VR-340	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Rhinovirus 16	VR-1126	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Rhinovirus 14	VR-284	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Rhinovirus 37	VR-1147	1,0 x 10 <sup>7</sup> TCID50/ml	3/3 pos	3/3 neg
Varicella	Ellen	6,5 x 10 <sup>7</sup> PFU/ml*	3/3 pos	3/3 neg

Dessa virusstammar anskaffades från American Type Culture Collection (ATCC), och titrarna upprättades av det fristående laboratorium där korsreaktivitetstesterna utfördes.

## ANALYTISK KÄNSLIGHET

Detektionsgränser (LOD) för Clearview RSV-restestet. Tabell 10: De interfererande substanserna för RSV-antigen undergrupp A (långa stammar och A2-stammar) och RSV-antigen undergrupp B (18537 och WV/14617/85, B-1-stammar) redovisas i **tabell 9**.

**Tabell 9: Detektionsgränser (LOD) för Clearview RSV**

RSV-stam	Antigen-undergrupp	LOD pfu/ml	Frekvens positiva test	95 % konfidensintervall
Long	A	$1,9 \times 10^5$	90 %	68,3-98,7 %
A2	A	$>1,12 \times 10^5$	80 %	56,0-94,2 %
18537	B	$>1,9 \times 10^5$	80 %	56,0-94,2 %
WV14617/85	B	$1,9 \times 10^5$	95 %	75,0-99,9 %

Samtliga RSV-koncentratiner är sådana som återfunnits hos originalprover före manipulering och placering på Clearview RSV-testenheten.

## INTERFERERANDE SUBSTANSER

Helblod, mucin och ett flertal olika kommersiellt tillgängliga produkter, vanliga kemikalier, förvaringsmedia och transportmedia utvärderades och visade sig inte interferera med Clearview RSV-testet vid de testade halterna. Testningen utfördes i form av tre upprepade tester. (Se **tabell 10**.)

**Tabell 10: Interfererande substanser**

Testsubstans	Slutl. konc. på testen.	Resultat	
		RSV-konkurrens	Interfererande substans
Scope munvatten	25 %	3/3 positiv	3/3 negativ
Listerine munvatten	25 %	3/3 positiv	3/3 negativ
CVS munvatten	25 %	3/3 positiv	3/3 negativ
Ludens halstabletter	25 %	3/3 positiv	3/3 negativ
Hall halstabletter	25 %	3/3 positiv	3/3 negativ
Ricola halstabletter	25 %	3/3 positiv	3/3 negativ
Afrin nässpray	10 %	3/3 positiv	3/3 negativ
Neosynfrin nässpray	10 %	3/3 positiv	3/3 negativ
CVS nässpray	10 %	3/3 positiv	3/3 negativ
4-acetamidofenol	10 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Acetylsalicyl- syra	20 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Klorfeniramin	5 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Dextrometorfan	10 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Difenhydramin	5 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Efedrin	20 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Guiakol- glyceroleter	20 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Oxymetazolin	10 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Albuterol	10 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Mucin	4 mg/ml	3/3 positiv	3/3 negativ
Helblod	50 % (viktproc.)	3/3 positiv	3/3 negativ

## REPRODUCERBARHETSSTUDIER

NCCLS-dokument EP 12, "User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline" (användarprotokoll för utvärdering av prestanda för kvalitativt test, godkänd riktlinje)<sup>8</sup> definierar de avgörande värdena för utvärdering av ett kvalitativt tests prestanda. Ett av dessa avgörande värden är "avgränsningsvärdet", det vill säga den testresponsnivå över vilken ett prov anses vara positivt, och under vilken ett test anses vara negativt, samt den detektionsgräns (LOD) vid vilken testsvaret ger 95 % positiva resultat och 5 % negativa resultat. Avgränsningsvärdet motsvarar den virushalt som ger 50 % positiva resultat och 50 % negativa resultat. De nivåer som ligger 10 % respektive 20 % över avgränsningsvärdet ska ge positiviteter på mellan 50 % och 95 %. För RSV-nivåer som ligger 10 % respektive 20 % under avgränsningsvärdet ska andelen negativa testresultat ligga mellan 50 % och 95 %.

Under tre på varandra följande dagar utvärderade ett antal olika operatörer, vid ett stort antal olika testanläggningar, Clearview RSV-testets prestanda i form av såväl maskerade reproducerbarhetsförsök in house (se **tabell 11**) som maskerade reproducerbarhetsförsök vid läkarmottagningslaboratorier (se **tabell 12**). Som framgår så definierar dessa försök de avgörande värdena för den kvalitativa funktionen på följande sätt:

1. Avgränsningsvärdet vid en virushalt på  $9,3 \times 10^4$  pfu/ml, där 50 % av de upprepade proven befunnits vara positiva och 50 % befunnits vara negativa.
2. Detektionsgränsen (LOD) vid en virushalt på  $1,9 \times 10^5$  pfu/ml, där de positiva testresultaten närmar sig 95 % och de negativa testresultaten närmar sig 5 %.
3. Det viruskoncentrationsintervall (pfu/ml) över avgränsningsvärdet där

de positiva testvärdena utgör mellan 50 % och 95 %.

4. Det viruskoncentrationsintervall (pfu/ml) under avgränsningsvärdet där de negativa testvärdena utgör mellan 50 % och 95 %.

Dessutom visade POL-fältstudier vid tre fristående institutioner förväntade värden, med värden för procentandel positiva tester för LOD-värdet vid  $1,9 \times 10^5$  pfu/ml som närmade sig 95 %. Virushalter över 95-procentsintervallet vid  $7,7 \times 10^5$  pfu/ml, som närmar sig 100 % positiva testresultat, visades. Dessutom har virushalterna vid 10 % ( $1,02 \times 10^5$  pfu/ml) respektive 20 % ( $1,12 \times 10^5$  pfu/ml) över avgränsningsvärdet andelar förväntade positiva testresultat på 61 % respektive 74 %. Vid 20 % under avgränsningsvärdet ( $7,4 \times 10^4$  pfu/ml) utgör andelen negativa testresultat 77 %, och utanför 95-procentsintervallet vid  $4,7 \times 10^4$  pfu/ml närmar sig andelen negativa testresultat 100 % (tabell 12).

**OBS:** Den positiva kontroll som användes vid reproducerbarhetsförsöken var RSV Long Strain vid enhetens detekteringsgräns ( $1,9 \times 10^5$  pfu/ml), i syfte att bättre definiera analysens kritiska punkt. Den kontroll som ingår i kitet har dubbla denna detekteringsgräns koncentration.

## In house reproducerbarhet

Tabell 11 nedan redovisar de positiva respektive negativa testresultaten för Clearview RSV, med konfidensintervall (KI) på 95 %, för fem RSV-koncentrationer: (1) en detekteringsgräns (LOD) på  $1,9 \times 10^5$  pfu/ml, (2) ett avgränsningsvärde på  $9,3 \times 10^4$  pfu/ml, (3) 20 % över avgränsningsvärdet vid  $1,12 \times 10^5$  pfu/ml, (4) 10 % över avgränsningsvärdet vid  $1,02 \times 10^5$  pfu/ml, samt (5) 20 % under avgränsningsvärdet vid  $7,4 \times 10^4$  pfu/ml. Testningen genomfördes med kodade prover i form av dagliga köringar under tre på varandra följande dagar, och av tre operatörer. Samtliga RSV-koncentrationer är sådana som återfunnits hos originalprover före manipulering och placering på

**Tabell 11: In house reproducerbarhet för Clearview RSV**

RSV Long Strain (pfu/ml)	Antal replikat	Frekvens (%) positiva (95 % KI)	Frekvens (%) negativa (95 % KI)
$1,9 \times 10^5$	30	83,3 (65,3–94,4)	16,7 (5,64–34,7)
$1,12 \times 10^5$	90	67,8 (57,1–77,3)	32,2 (28,8–42,9)
$1,02 \times 10^5$	90	58,9 (48,0–69,2)	41,1 (30,8–51,9)
$9,30 \times 10^4$	90	50,0 (39,3–60,7)	50,0 (39,3–60,7)
$7,40 \times 10^4$	90	23,3 (15,1–33,4)	76,6 (66,6–84,4)

Clearview RSV-testenheten.

## Reproducerbarhetsstudier vid läkarmottagningslaboratorier (POL)

Tabell 12 redovisar de positiva och negativa testresultaten för Clearview RSV, med konfidensintervall (KI) på 95 %, för RSV-koncentrationer vid detekteringsgränsen (LOD) på  $1,9 \times 10^5$  pfu/ml, över 95-procentsintervallet vid  $7,7 \times 10^5$  pfu/ml, på tre nivåer kring avgränsningsvärdet mellan  $7,40 \times 10^4$  pfu/ml och  $1,12 \times 10^5$  pfu/ml, samt under 95-procentsintervallet vid  $4,7 \times 10^4$  pfu/ml. Testningen utfördes med kodade prover, av sex operatörer, med olika utbildningsbakgrunder och yrkeserfarenheter, med tre upprepningar vid tre institutioner under tre dagar. Samtliga RSV-koncentrationer är sådana som återfunnits hos originalprover före manipulering och placering på Clearview RSV-testenheten.

**Tabell 12: Reproducerbarhet vid**

## läkarmottagningslaboratorier för Clearview RSV

RSV Long Strain (pfu/ml)	Antal replikat	Frekvens (%) positiva (95 % KI)	Frekvens (%) negativa (95 % KI)
$7,7 \times 10^5$	54	100 (93,4–100)	00,0 (0,0–6,6)
$1,9 \times 10^5$	54	100 (93,4–100)	00,0 (0,0–6,6)
$1,12 \times 10^5$	54	74,1 (60,4–85,0)	25,9 (14,9–39,65)
$1,02 \times 10^5$	54	61,1 (46,9–74,1)	38,8 (25,9–53,12)
$7,40 \times 10^4$	54	22,2 (12,0–77,7)	77,7 (64,4–87,96)
$4,7 \times 10^4$	54	00,0 (0,0–6,6)	100 (93,4–100)

OBS: RSV Long Strain, som användes vid genomförandet av dessa reproducerbarhetsstudier, är en laboratorieanpassad stam som

antingen uppträder på samma sätt som kliniska prov eller inte gör det.

## Produktsupport

Om du har några frågor med avseende på hur denna produkt ska användas kan du vända dig till Wampoles avdelning för teknisk service på nummer +1 800 257 9525 (tryck på 2). I andra länder än USA kontaktar du i stället den lokala distributören.

## REFERENSER

1. *Respiratory Syncytial Virus Activity — United States 2000-01* MMWR, CDC 18 januari 2002.
2. *Recommendations for the Prevention of HIV Transmission in Health Care Settings, Morbidity and Mortality Weekly Report, Centers for Disease Control, 21 augusti 1987.*
3. *Kellog, James A., Culture vs. Direct Antigen Assays for Detection of Microbial Pathogens From Lower Respiratory Tract Specimens Suspected of Containing Respiratory Syncytial Virus; Arch Pathol Lab Medicine – Vol 115, maj 1991.*
4. *Gilchrist, S., et al, National surveillance for respiratory syncytial virus,*

*United States, 1985-90. J Infect Dis 1994 – Vol 102:1211-6.*

5. *Glezen, WP, et al. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. Am J Dis Child 1996 – Vol 140:543-6.*
6. *Falsey, AR, et al. Respiratory syncytial virus infection in adults. Clin Microbiol Rev 2000 - Vol 13:371-384.*
7. *Dowell, SF, et al. Respiratory syncytial virus is an important cause of community-acquired lower respiratory infection among hospitalized adults.*
8. *EP-12, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance – Approved Guideline, August 2002, NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 900 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, <http://www.NCCLS.org>*

Tillverkas för:  
Wampole Laboratories  
2 Research Way  
Princeton, NJ 08540  
800-257-9525  
Tryck 1 för kundtjänst  
Tryck 2 för teknisk service



Endast för in vitro-diagnostik



Satsnummer



Utgångsdatum



30°C

Förvara vid 2...30°C




inverness medical  
Professional diagnostics group

Wampole Laboratories

Revideringsdatum: December 2003

INS 135060-01

Unipath, Clearview,  
Diamondssymbolen,  inverness medical  
och Wampole Laboratories  
är varumärken.



Unipath Limited  
Bedford MK44 3UP UK