

Willi Fox – VRS

Test antigène

Mode d'emploi (IFU)

Test rapide au moyen d'un prélèvement nasal

1. Champ d'application

Le test *Willi Fox* – VRS est un test monophasé-immunoassay rapide permettant la détermination qualitative de l'antigène VRS (virus respiratoire syncytial) au moyen d'un prélèvement nasal ou lavage nasal. Ce test est une aide au diagnostic différencié d'une infection au VRS. Il est destiné à l'usage professionnel dans des laboratoires et des cabinets médicaux.

Le VRS est un virus à ARN monocaténaire qui appartient à la famille des paramyxoviridae¹. Il est la cause la plus fréquente d'infections respiratoires dans le monde et est une des causes principales des infections des voies respiratoires chez l'enfant et l'adulte. Dans le monde entier, le VRS cause la mort de jusqu'à 1.000.000 de nourrissons et d'enfants âgés de moins de cinq ans². Il est en plus la cause principale des infections nosocomiales chez les enfants qui ont été hospitalisés pour d'autres raisons³. On estime le taux de mortalité des enfants hospitalisés à cause d'une infection au VRS entre 0,3% et 1,0%⁴. Celui des enfants ayant déjà une maladie du cœur ou des poumons est estimé à 2,5% - 4,0%⁵. Une bronchite causée par le VRS chez le bébé âgé de moins d'un an est le plus haut facteur à risques pour développer de l'asthme par la suite. Chez les enfants plus âgés ainsi que chez les adultes, la maladie est moins grave et ne se distingue en général pas d'un simple refroidissement.

Une infection au VRS n'immunise que de manière limitée. Des personnes peuvent donc être contaminées plusieurs fois au cours de leur vie et développer des maladies graves⁶. Le VRS comprend un sérotype et est divisé en deux groupes d'antigènes A et B⁷. Les deux groupes sont présents dans la population. Le sous-type B est caractérisé d'asymptomatique, il est également responsable de la plupart des infections au VRS. Les maladies plus graves concernent le sous-type A.

Le Virus RS attaque les voies respiratoires supérieures et inférieures. Les maladies les plus fréquentes des voies respiratoires inférieures sont les pneumonies et les bronchiolites. Les symptômes de la bronchiolite sont la toux, des bruits respiratoires, des débuts de dyspnée, une fréquence respiratoire plus élevée (jusqu'à 40 respirations par minute) et un changement de couleur bleuâtre de la peau autour de la bouche. Les symptômes fréquents de la pneumonie sont une insuffisance respiratoire et des crépitements pulmonaires (crepitatio).

Le VRS est plus ou moins fréquent selon les saisons. Il apparaît le plus en hiver, au moment de la grippe.

Une épidémie plus violente survient tous les deux ans en Suisse. Les transmissions du virus se font d'humain à humain en diffusion par aérosol s'il y a un contact proche, en pénétrant dans le corps par la conjonctive et la muqueuse nasale. Il est également possible de s'infecter en touchant une surface ou un objet qui n'a pas été nettoyé (également les mains). La possibilité d'infection persiste entre un et cinq jours après contact. Elle est la plus forte pendant les premiers jours de la maladie. Le temps d'incubation entre l'infection et la maladie elle-même est de deux à huit jours.

Des résultats négatifs ne peuvent pas exclure une infection à 100% et doivent être confirmés grâce à une culture cellulaire ou un essai moléculaire.

2. Principe du test

Willi Fox- VRS détermine la présence de l'antigène de RSV grâce au changement de couleur de la bande de test. Les anticorps anti-VRS se trouvent dans la zone de test de la membrane. Pendant l'exécution du test, l'échantillon réagit avec les anticorps polyclonaux anti-VRS, qui sont conjugués à des particules colorées. Par force capillaire, ce complexe s'écoule à travers la membrane et réagit dans la zone de test avec les substances présentes. S'il y a un nombre suffisant d'antigènes Influenza A dans l'échantillon, une ligne colorée apparaît dans la zone de test. La présence d'une ligne colorée signifie un résultat positif. L'absence de ligne signifie un résultat négatif.

Ce test est prévu spécifiquement pour antigènes d'influenza A et B. Il n'y a pas de réaction croisée connue avec une flore normale ou d'autres maladies de la voie respiratoire.

L'apparition d'une ligne rouge dans la zone de contrôle signifie que le test a fonctionné correctement, que le volume d'échantillon était suffisant et que l'écoulement a bien fonctionné.

3. Contenu de l'emballage du test

- Sachets scellés contenant chacun *cas-* *Le déshydratant contenu dans chaque sachet*
sette. n'entre pas dans l'exécution du test et doit être
éliminé!
- 1 liquide-tampon (Puffer)
- Bâtonnets stériles Pour récolter l'échantillon
- Tubes d'extraction Pour préparer l'échantillon
- Capuchon de tube d'extraction avec
filtre incorporé

- 1 support pour tube d'extraction Comme plan de travail
- 1 Mode d'emploi

4. Matériel supplémentaire (non livré)

- Chronomètre

5. Stockage

- Les tests **Willi Fox** – VRS (les sachets non ouverts) et les réactifs peuvent être stockés à température ambiante ou au réfrigérateur (2-30°C) jusqu'à la date de péremption. Ne pas congeler!
- Prenez soigneusement garde à ne pas contaminer les composantes individuelles du test lors de l'emploi. La contamination biologique des composantes individuelles peut falsifier le résultat.

6. Remarques importantes

- *Destiné exclusivement au personnel formé et prévu uniquement pour diagnostic in vitro.*
- *Ne pas employer après échéance de la date de péremption.*
- *N'utilisez pas le test si l'emballage de protection est endommagé.*
- *A usage unique.*
- *Lisez précisément le mode d'emploi avant l'application du test.*
- *Utilisez le test uniquement avec les bâtonnets stériles livrés.*
- *N'utilisez pas le liquide-tampon (Buffer) s'il a changé de teinte ou s'il est trouble. Cela peut être un signe de contamination microbienne.*
- *Ne mélangez pas des réactifs de charges différentes.*
- *Le prélèvement nasal doit s'effectuer uniquement avec les bâtonnets stériles livrés.*
- *Les tests contiennent des produits d'origine animale. Même si les animaux et leur état de santé sont certifiés, la possibilité d'une présence d'un agent infectieux ne peut jamais être exclue complètement. Nous recommandons donc d'observer les normes standard relatives à l'utilisation et à la manipulation de matériel infectieux et de réactifs chimiques.*
- *Il faut éliminer tous les déchets contaminés, comme les pipettes ou les cassettes de test, conformément aux règles.*

- *Utilisez un nouvel échantillon s'il existe un risque que l'échantillon utilisé soit mal marqué, contaminé ou abîmé.*
- *Ne retirez la cassette du sachet d'aluminium qu'immédiatement (une heure maximum) avant l'exécution du test.*
- *Faites attention à la période d'évaluation indiquée.*
- *L'humidité et la chaleur peuvent compromettre les résultats du test.*

7. Prélèvement et préparation de l'échantillon

Prélèvement de l'échantillon:

Pour le test d'influenza de Willi Fox, vous pouvez utiliser en tant qu'échantillon:

- Ecouvillonnage nasal / écouvillonnage nasopharyngien
- Lavage nasal
- Aspiration nasale

Attention:

- N'utilisez pas d'échantillons qui sont visiblement contaminés de sang. Le sang empêche le bon écoulement sur la membrane de la cassette de test.
- N'utilisez que des échantillons prélevés très récemment pour obtenir un résultat optimal.
- Les tests rapides ont le rendement clinique le plus sûr s'ils ont été exécutés dans un stade précoce de l'infection.
- Pour une performance optimale du test, utilisez les écouvillons livrés. Alternativement vous pouvez utiliser des écouvillons stériles en nylon, en mousse ou Rayon pour le prélèvement de l'échantillon. N'utilisez pas d'écouvillons en alginate de calcium.

Ecouvillonnage nasal:

1. Introduisez l'écouvillon délicatement dans la narine qui a le plus de sécrétions. Si une sécrétion n'est pas visible, prenez la narine la plus bouchée.
2. Tournez délicatement l'écouvillon et poussez-le au fond de la narine jusqu'à ce que vous sentiez la résistance de la cloison nasale (pas plus de 2,5 cm).
3. Tournez l'écouvillon quelques fois contre la cloison nasale.
4. Retirez l'écouvillon lentement de la narine en effectuant un mouvement de rotation.

Remarque: Si le patient a la cavité nasale sèche, trempez l'écouvillon préalablement dans une solution de sel de cuisine (non livré) et prélevez ensuite l'échantillon.

Ecouvillonnage nasopharyngien:

1. Introduisez l'écouvillon délicatement dans la narine qui a le plus de sécrétions.
2. Tenez l'écouvillon au niveau de la base du septum nasal et appuyez-le délicatement vers le nasopharynx. Tournez l'écouvillon plusieurs fois.
3. Retirez l'écouvillon lentement avec un mouvement de rotation.

Lavage nasal:

1. Pendant que la tête du patient est allongée au maximum, faites couler une solution normale et stérile de sel de cuisine dans une narine avec une seringue. Utilisez la plus petite quantité de sel de cuisine possible, car un volume trop grand de solution peut diluer l'antigène dans l'échantillon. Pour récolter le lavage nasal, posez un récipient propre et sec sur la lèvre supérieure du patient juste en dessous du nez en appuyant légèrement.
2. Le patient redresse la tête vers l'avant pour que le liquide puisse couler de la narine dans le récipient.
3. Répétez ce processus pour l'autre narine et récoltez le liquide dans le même récipient.

Remarque : Les récipients pour solution de sel de cuisine, pour la seringue et pour l'échantillon ne sont pas compris dans le kit de ce test.

Aspiration nasale:

1. Faites l'aspiration nasale.
2. Nous conseillons un volume d'échantillon de 1 à 3 ml (si un milieu de transport est utilisé, nous conseillons une dilution minimale des échantillons (1 ml)).
3. Trempez un écouvillon stérile dans le liquide nasal recueilli.

Remarque: L'appareil d'aspiration n'est pas contenu dans ce kit de test.

Transport de l'échantillon et stockage:

Les échantillons doivent être testés très rapidement après le prélèvement.

Pour le lavage / l'aspiration du nez, nous conseillons des volumes d'échantillons de 1 à 3 ml. Si un milieu de transport est utilisé, nous conseillons une dilution minimale des échantillons (1 ml).

Les échantillons peuvent être stockés, avant l'exécution du test:

- 3 jours à 2 ~ 8 °C
- À température ambiante (15 ~ 30 °C) dans un récipient fermé, sec et propre pendant 4 heures.
- Des échantillons de lavage nasal ou d'aspiration nasale peuvent aussi être congelés (-70 °C ou plus froid) pendant maximum un mois.

8. Exécution du test et interprétation

Nous conseillons de faire ce test de RSV dans un stade précoce de l'infection. Faites-le idéalement 2 ou 3 jours après l'apparition des symptômes, puisque la teneur en virus baissedéjà fortement après 4-6 jours. L'échantillon pourrait alors amener à des résultats faux-négatifs.

Tous les tests, échantillons, réactifs et liquides de contrôle doivent être amenés à température ambiante avant l'exécution du test (15°C à 30°C).

1. Sortez la cassette de son emballage, notez dessus le nom du patient (ou du contrôle) ainsi que la date. Posez-la ensuite sur une surface horizontale. Pour un résultat optimal, le test devrait être exécuté une heure après l'avoir ouvert.
2. Mettez un tube d'extraction propre sur le support pour tube d'extraction prévu. Donnez **10 gouttes** de liquide-tampon dans le tube d'extraction.

Pour empêcher les contaminations croisées, évitez le contact entre le liquide-tampon avec l'écouvillon ou avec le tube d'extraction.

3. Dans le cas d'un écouvillonnage nasal ou écouvillonnage nasopharyngien:



Introduisez l'écouvillon dans le tube d'extraction. Appuyez-le contre la paroi élastique. Attendez quelques instants pour qu'il se regorge de liquide. Appuyez-le à nouveau contre la paroi. Répétez ce processus idéalement plusieurs fois. Quand vous retirez l'écouvillon, pressez-le de nouveau contre la paroi pour laisser un maximum de liquide dans le tube.



Dans le cas d'un lavage nasal ou d'une aspiration nasale:

Remuez le liquide de l'échantillon et mélangez-le bien. Ne centrifugez pas, cela pourrait faire disparaître du matériel cellulaire et pourrait nuire au bon fonctionnement du test.
Donnez 300 µl avec une pipette (non livrée) dans le tube d'extraction.

- Placez le capuchon de tube d'extraction avec filtre incorporé (livré avec le test) sur le tube d'extraction.



- Donnez **3 gouttes** (environ 150 µl) de la solution d'extraction obtenue préalablement dans l'ouverture de la cassette.



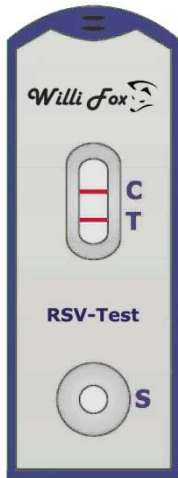
Evitez la formation de bulles dans l'ouverture de la cassette et ne mettez pas de liquide dans la fenêtre de test.

- Relevez le résultat après **15 minutes**.

Attention: le résultat ne doit plus être relevé après une attente de 20 minutes!

N'attendez pas plus de 20 minutes pour relever le résultat!

Interprétation du résultat



Résultat positif VRS:

Apparition de **deux lignes rouges** dans la fenêtre de test:

Une ligne de test rouge pour VRS (T) qui donne le résultat du test et une autre ligne dans la région de contrôle (C) (elle confirme le déroulement correct du test).

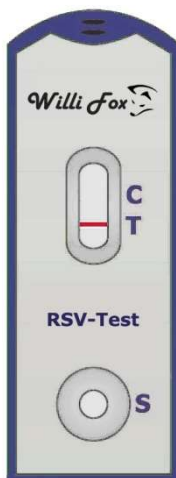
Attention: L'intensité de couleur de la ligne de test peut être plus faible que la ligne de contrôle et varier entre le rouge et le rose. Une faible coloration est considérée comme un résultat positif.



Résultat négatif VRS:

Une seule ligne rouge apparaît dans la fenêtre de test:

La ligne de contrôle (C) confirme le déroulement correct du test.



Résultat non valable:

Aucune ligne rouge n'apparaît dans la fenêtre (zone de contrôle (C)). Le test n'est **pas valable** et doit être refait.

Les raisons les plus fréquentes pour un résultat non valable sont un volume d'échantillon insuffisant, une exécution du test qui n'est pas correcte, ou que la date de péremption du test est dépassée. Si le test est refait et que la ligne de contrôle n'apparaît toujours pas, n'utilisez plus ce kit de test et contactez le fabricant Willi Fox.

9. Remarques sur les résultats du test

Résultat positif RSV:

Le résultat n'identifie pas de sous-type spécifique VRS A ou B. Le résultat n'exclut pas de co-infection avec d'autres agents pathogènes.

Résultat négatif RSV:

Une infection due à l'influenza A ou B ne peut pas être totalement exclue, puisque l'antigène viral dans l'échantillon peut se trouver en-dessous de la limite de détection du test. Si les symptômes sont les symptômes typiques d'influenza, nous conseillons une culture virale ou un essai moléculaire.

Résultat non valable:

Le résultat n'est pas univoque. Prélevez un autre échantillon et répétez le test.

10. Contrôle de qualité

Contrôle interne: l'apparition d'une ligne de contrôle dans la zone de contrôle C prouve le déroulement correct du test, c'est-à-dire qu'il a été effectué selon les règles et que le volume de l'échantillon était suffisant.

Contrôle externe du test: Des contrôles externes ne sont pas livrés avec ce test. Il est conseillé de pratiquer des contrôles de qualité selon les normes GLP afin d'assurer une qualité correcte du test.

11. Champ d'application et limites de la méthode

- **Willi Fox** – RSV est prévu uniquement pour l'utilisation in vitro et pour la détermination d'antigènes de RSV par prélèvement nasal. L'intensité de la ligne colorée ne doit pas être interprétée.
- Des tests supplémentaires sont requis pour différencier des sous-types spécifiques ou des souches du VRS en accord avec les autorités sanitaires.
- La précision du test dépend de la qualité de l'échantillon. Des résultats faux-négatifs peuvent survenir si l'échantillon a été mal prélevé ou mal stocké.
- Comme pour tous les tests de diagnostic, un diagnostic clinique définitif ne peut pas être établi en se basant sur le résultat d'un seul test, mais doit être fait par le médecin après expertise clinique et expertise de laboratoire.
- Le fait de ne pas respecter le mode d'emploi en exécutant ou en interprétant ce test peut influencer le résultat ou rendre le résultat non valable.
- Les résultats obtenus avec ce test, et particulièrement les lignes faibles qui sont difficiles à

interpréter, doivent être utilisés seulement en complément à d'autres informations cliniques qui sont à portée du médecin.

- Les raisons d'une infection des voies respiratoires qui a été causée par d'autres micro-organismes que par le VRS ne peuvent pas être déterminées avec ce test.
- Un « effet-hook » peut survenir quand l'intensité de couleur de la ligne diminue, alors que la concentration d'antigènes augmente. Si un « effet-hook » est soupçonné, la dilution de l'échantillon peut augmenter l'intensité de couleur de la ligne.

12. Propriétés du test

A. Etudes comparatives

Une étude clinique a été menée avec 690 échantillons du test *Willi Fox* – VRS. Ils ont été testés et comparés à des tests PCR de laboratoire :

Tableau : Comparaison entre le test *Willi Fox* – VRS et le test PCR

		PCR positif	PCR négatif	Total
<i>Willi Fox</i> – Test VRS	VRS Positif	235	3	238
	VRS Négatif	5	447	452
	Total	240	450	690

Sensibilité relative: 97,9% (95,2%-99,1%)*
Spécificité relative: 99,3% (98,1%-99,8%)*
Concordance totale: 98,8% (97,7%-99,4%)*

***95% Intervalle de confiance**

B. Réactivité analytique (Réaction croisée)

Des réactions croisées avec les organismes suivants ont été examinées à une fréquence de $1,0 \times 10^9$ organismes / ml. Ces examinations ont conduit à des résultats négatifs avec le test rapide *Willi Fox* d'antigène VRS:

Virus influenza A/B/C	Rhinovirus humain	Coronavirus humain
Enterovirus	Adenovirus humain	Parainfluenza Virus

Virus ourlien	Norovirus	Haemophilus influenza
Corynebacterium diphtheria	Streptococcus pyogenes	Moraxella catarrhalis
Streptococcus pneumoniae	Bordetella pertussis	Legionella pneumophila
Klebsiella pneumoniae	Staphylococcus aureus	Burkholderia cepacia
Mycoplasma pneumoniae	Pseudomonas aeruginosa	Chlamydia pneumoniae
Candida albicans	Mycobacterium tuberculosis	Histoplasma capsulatum
Blastomyces dermatitidis	Coccidioides immitis	Aspergillus fumigatus
Cryptococcus neoformans		

C. Reproductibilité






Un essai à blanc du test **Willi Fox** - VRSa été réalisé à trois endroits cliniques différents. Les usagers non professionnels présents ont utilisé des panels d'échantillons codés à blanc avec des échantillons de virus de grippe A et B négatifs, fortement négatifs, légèrement positifs (à la limite de détection) et modérément positifs (au-dessus de la limite de détection) pour vérifier la reproductibilité du test **Willi Fox** - VRS.

Les usagers ont testé chaque échantillon plusieurs fois pendant trois jours différents.
100 % des échantillons ont donné le résultat attendu.

13. Littérature

1. Course BS3035: Virology, University of Leicester, <http://www-micro.msb.le.ac.uk/3035/Paramyxoviruses.html>.
2. Respiratory Syncytial Virus (RSV): Overview, Treatment, and Prevention Strategies, Mark J. Polak, MD.
3. Macartney K. et al. Nosocomial Respiratory Syncytial Virus Infections: The Cost-Effectiveness and Cost-Benefit of Infection Control. Pediatrics Vol. 106 No. 3 Sept 2000, pp. 520–526. <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/content/full/106/3/520>.
4. Thompson W. et al. Mortality Associated With Influenza and Respiratory Syncytial Virus in the United States. JAMA, January 8, 2003 – Vol 289, No. 2.
5. Moler F.W. et al. Respiratory syncytial virus morbidity and mortality estimates in congenital heart disease patients: a recent experience. Crit Care Med. 1992 Oct; 20(10):1406–13.
6. Guidelines for Preventing Health-Care-Associated Pneumonia, 2003, page 43
7. Mark J. Polak, MD, Department of Pediatrics, West Virginia University School of Medicine, Morgantown, WV, USA

14. Explication des symboles

REF	Numéro de produit		à usage unique
LOT	Numéro de lot		date de péremption
	Température de stockage		Contenu
IVD	Seulement pour in vitro		mode d'emploi



Tous les tests *Willi Fox* – VRS sont produits en Suisse et distribués par :

Willi Fox GmbH
CH - 4001 Basel
Tel. +41 (0)61 534 74 65
Fax +41 (0)61 535 14 80
willifox@willifox.com

www.willifox.com