

Test inmunocromatográfico In vitro para detección de los virus respiratorios Influenza A y B en secreciones nasofaríngeas (torundas, lavados o aspirados)

**SOLAMENTE PARA USO PROFESIONAL
USO IN VITRO**

DISTRIBUTOR :

**Referencia: 7044DC-1012, 25 tests por estuche
Número de marcado CE/98/79: BE/CA02/019/05
Fo-7.5-26-12-ES**



**Pº Pontones 7 Madrid – 28005
Tif: 91- 474 57 99 // 91 – 474 56 23
Fax: 91 – 5 17 52 86**

www.materlab.com materlab@materlab.com

Fig 1

I. INTRODUCCIÓN

La gripe es una infección viral altamente contagiosa de las vías respiratorias altas, que es caracterizada por la variabilidad del antígeno, la estacionalidad y el impacto sobre la población en general.

De los dos principales sub-tipos de la gripe (A y B), el subtipo de la gripe A son especialmente diferenciados por la alta variabilidad de los antígenos de las glicoproteínas superficiales (hemaglutininas y neuraminidasas). El virus de la gripe A es el más frecuente y se asocia a las epidemias más serias. La gripe puede causar complicaciones severas tales como bronquitis o pulmonía, particularmente en niños, la gente mayor o adultos con enfermedad respiratoria crónica.

Frecuentemente la infección viral suave es transmitida por secreciones respiratorias con el estornudo o toser. Hay muchas otras infecciones virales que pueden confundirse con la gripe, haciendo necesario el uso de pruebas de laboratorio para distinguirla de otras infecciones respiratorias agudas.

Nuevos antivirales eficaces han empezado a aparecer desde los últimos años 1990, pero estos tratamientos solamente son eficaces si están administrados precozmente (antes de 48 h del inicio de la enfermedad). El aislamiento del virus mediante cultivo celular todavía es considerado como el método del patrón oro para la diagnosis de la gripe, con una sensibilidad de casi 100% después de 3 días. El cuidado médico de los pacientes y los costes económicos se podían mejorar en gran medida mediante el empleo de un método de detección rápido, específico y sensible del antígeno para de esta manera, permitir el uso de nuevos tratamientos antivirales.

II. PRINCIPIO DEL TEST

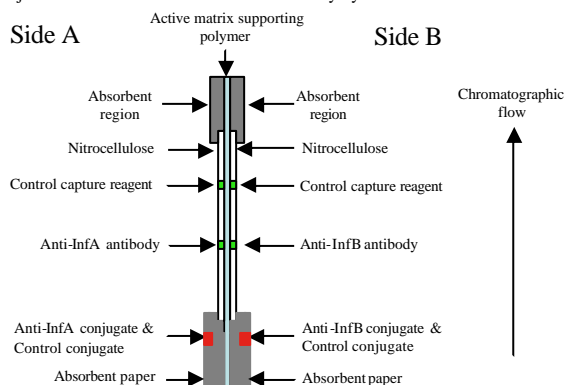
El test consiste en un ensayo Inmunocromatográfico listo para su uso, basada en partículas de oro coloidal. Este dispositivo permite detectar el virus de la gripe A y B en muestras obtenidas a través de torunda, lavados o aspirados nasofaríngeos o en sobrenadantes de cultivos celulares.

La especificidad del ensayo es obtenida mediante el empleo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos nucleoproteínicos de la gripe A o B.

El dispositivo está formado por dos tiras individuales, cada una de ellas específica para el tipo A o para la gripe B que se encuentran unidas por su parte posterior. El dispositivo muestra dos lados activos específicos (imagen # 1). Un lado se encuentra sensibilizado con un anticuerpo monoclonal específico de para la gripe A (Lado A), mientras que el otro lado está sensibilizado con un anticuerpo específico monoclonal para la gripe B (Lado B). Las lecturas del resultado se realizan en ambos lados.

Cuando la tira se sumerge en la solución de la muestra, el conjugado presente en cada una de las membranas situadas en ambos lados de la tira son solubilizadas, procediendo a emigran junto con la muestra a lo largo de la superficie de nitrocelulosa. Si la gripe B está presente en la muestra, se originará complejo Ag-Ac entre el conjugado Ac+oro coloidal y el Ag del virus de la Gripe B en el lado de B de la tira.

Si la muestra contiene virus de la gripe A, se producirá la formación de un complejo Ag-Ac con el conjugado Ac+oro coloidal presente en la tira A (lado A). En ambos casos, este complejo Ag-Ac ascenderá a través de la membrana de nitrocelulosa hasta llegar a la Zona Test, conteniendo anticuerpos monoclonales específicos y produciendo una inmuno-fijación del complejo y originando la formación de una línea rojiza en los primeros 15 minutos. La solución continúa emigrando hasta encontrar un segundo reactivo (un anticuerpo Anti-IgG de ratón en el lado B y un anti-IgY de pollo en el lado A) que producirá una nueva inmuno-fijación del conjugado restante y visualizándose la formación de una segunda línea de color rojizo indicando el buen desarrollo del ensayo y la finalización del mismo.



III. COMPOSICIÓN DEL KIT

1. 25 TIRAS Influ A&B RESPI-STRIP

Cada varilla está sensibilizada en el lado A con Ac monoclonal anti-influenza A y con un anticuerpo Anti-IgG de ratón y en el lado B con Ac monoclonal anti-influenza B y con un anticuerpo Anti-IgY de pollo. Estos conjugados son deshidratados en sus lados específicos y situados en la zona inferior de cada varilla. Las varillas-test son almacenadas en botes conteniendo desecantes. Estas varillas-tests vienen presentadas en un bote con desecante.

2. Buffer de Dilución (frasco gotero 15 ml)

Contiene solución Tamponada salina a Ph 7.5: (NaN3 < 0,1%), detergente y compuestos proteínicos.

3. Indicaciones para el uso.

MATERIAL NO SUMINISTRADO

- 3 or 5 mL test tubes
- Utensilios de toma de muestras.

MATERIAL DISPONIBLE OPCIONAL

- Control Positivo Influenza A&B (C-1092)

IV. PRECAUCIONES ESPECIALES

oTodas las operaciones ligadas al uso de este test deberán de ser realizadas de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio.

oEl test Influ A&B Respi-Strip es para diagnosis "In Vitro" exclusivamente.

oEvitar tocar directamente con los dedos las tiras de nitrocelulosa.

oEmplear guantes durante la manipulación de las muestras.

oDesechar los guantes, isopos, tubos-test y tiras sensibilizadas de acuerdo con las GLP (Good Laboratory Practices).

oNunca usar reactivos procedente de otros kits.

oEl frasco conteniendo las tiras sensibilizadas deberá de cerrarse tan pronto se hayan obtenido el numero necesario de tiras a utilizar en ese momento. Dado que estas tiras son sensibles a la humedad, asegurarse que el sobre conteniendo desecante se encuentra en su interior.

oDos líneas verdes a ambos lados de la tira indica el lugar de adsorción de los anticuerpos. Estas desaparecerán durante el transcurso del test.

oDescartar el empleo de la Solución Tamponada de Dilución si esta se contaminara por bacterias u hongos.

oLa calidad de los reactivos no podrá ser garantizada una vez sobre-pasada la fecha de caducidad indicada en el envase o si los reactivos son almacenados en condiciones inapropiadas.

V. ALMACENAJE Y CONSERVACIÓN

El kit INFLU A&B Respi-Strip, cuando todavía no está abierto, podrá mantenerse entre 4-30 Cº y usado hasta la fecha indicada en el envase.

Una vez abierto el kit es estable 15 semanas si se mantienen entre 4º y 30º C. y en ambiente libre de humedad. No congelar este kit.

Estudios de estabilidad en tiempo real están siendo llevados a cabo en Coris BioConcept. Los resultados pueden ser enviados si se necesitan.

VI. SAMPLES.

Las muestras a ensayar se deberán obtener y manipular según los métodos estándares para la colección de Aspirado Nasofaríngeo (NPS), lavados nasofaríngeos o torundas de muestras.

El uso de los medios de transporte no se ha validado en el Influ A&B Respi-Strip

1) Las muestras de NPS se deben de ensayar lo más pronto posible a su recolección. Si es necesario, podrán ser almacenados en nevera a 2-8 ºC hasta 24 horas o -20 ºC por períodos del tiempo más largos nunca exceder de 1 mes. Cerciérese de que las muestras no han sido tratadas con las soluciones conteniendo formaldehído o derivados.

2) Es altamente recomendable evitar el uso del esputo.

VII PROCEDIMIENTO

Preparación:

- ? Si el test INFLU A&B Respi-Strip ha permanecido a 4 °C. dejar que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de iniciar el ensayo.
- ? Escribir el nombre / número de la muestra en cada tubo-test, prever un tubo por muestra.
- ? Colocar cada tubo marcado en una gradilla.

PROCEDIMIENTO DEL TEST:

No se han comprobado los resultados con otras muestras que no sean NPS. Recomendamos el uso de NPS frescas para la obtención de resultados óptimos

- Si la muestra a ensayar es líquida, añadir **0,25 ml (8 gotas) de Solución Buffer de Dilución** en cada uno de los tubos y **0,25 ml de muestra** a fin de conseguir un ratio de dilución de ½.
- Torunda:
Las muestras podrán ser almacenadas en torundas conteniendo medio de transporte o cualquier dispositivo conteniendo gel o matriz esponjosa.
A) Si la muestra es almacenada sobre una torunda con medio de transporte líquido deberá de escurrirse apretando la torunda sobre la pared del tubo, posteriormente tratar como en el paso 1.
B) Si la muestra es almacenada en una torunda sobre un medio de transporte No Líquido, deberá posteriormente introducirse sobre un tubo conteniendo al menos 0.5 ml de solución salina o agua destilada y agitar y escurrir la torunda sobre la pared del tubo, procediendo a analizar la suspensión obtenida como el paso 1.
- ? Agitar en un vortex para obtener una buena homogenización.
- ? Introducir la tira sensibilizada en la dirección indicada por las flechas.
- ? Mantener 15 minutos la tira dentro del tubo hasta a la finalización de la reacción. Los resultados deben ser leídos mientras la tira está húmeda.

Con el fin de evitar la dilución del Conjugado de Oro Coloidal con la suspensión elaborada, NO SUMERGIR LA TIRA sensibilizada POR ENCIMA DE LA LÍNEA bajo las flechas.

VIII. VIII. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El lado de la tira de color púrpura es específico del el Virus de la Gripe A

El lado de la tira de color Azul es específico del Virus de la Gripe B

Los resultados serán interpretados de la siguiente manera:

- 1 línea = NEGATIVO
- 2 líneas = POSITIVO
- 0 líneas = INVALIDADO*

*La ausencia de la "línea de control", (línea superior de la tira) significará un Resultado Invalidado y por tanto, deberá de ser repetido.

Para almacenar los resultados, dejar secar la tira sensibilizada antes de retirar el material absorbente de su base. Una vez seca, podría aparecer una tenue sombra alrededor de la línea test.

IX. CONTROL DE CALIDAD

Positive Control:

De acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio, recomendamos la realización de periódicos controles de calidad de acuerdo con los requerimientos de cada laboratorio. Para ello Disponemos de un control positivo para INFLU A&B Respi-Strip (C-1092) en el cual la tira sensibilizada es introducida. Cada control positivo debe ser diluido 2x en el buffer de dilución.

X. CARACTERÍSTICAS

A. Detectabilidad:

El nivel de detectabilidad ha sido evaluado en 1.437X 107 vp/mL para la Gripe A y 4.375 X 107pv/mL para la gripe B.

B. Sensibilidad – Especificidad (correlación):

Dos evaluaciones se han realizado para evaluar la eficacia del kit. La Primera ha sido realizada en 115 muestras de torundas y comparadas con otra prueba rápida comercial de detección de Gripe A y por Rt-pcr.

Para la evaluación de la gripe B, la comparación se ha realizado sobre cultivos celulares como método de referencia en 255 muestras de torunda:

INFLUENZA A

ICT Influa competidor	Positiva	Negativa	Total
Influenza A (&B) Respi Strip	32	3*	35
Positiva	32	3*	35
Negativa	9	71	80
Total	41	74	115

Sensibilidad : 78 %

Valor predictivo positivo: 91.4 %

REF	Catalogue number	Icon	Manufactured by
IVD	In vitro diagnostic medical device	Temperature limitation icon	Temperature limitation
Σ	Contains sufficient for <n> tests	DIL SPE icon	Diluent specimen
📖	Consult instructions for use	Do not reuse icon	Do not reuse
☀️	Keep for the dry	Use by icon	Use by
DIL AS	Diluent assay	CONT NaN3 icon	Contains Sodium azide

Especificidad: 95.9 %

Valor predictivo negativo: 88.8%

De entre las tres muestras positivas con el estuche Coris Inlu A&B (lado A) y negativos con un estuche de la competencia, dos han sido positivos con la RT-PCR. De entre las nueve muestras detectadas negativas con el estuche Inlu-A&B y positivas con un estuche Inlu-A de la competencia, cuatro han sido confirmadas negativas con la RT-PCR.

RT-PCR	Positiva	Negativa	Total
Influenza A (&B) Respi Strip	34	1	35
Positiva	34	1	35
Negativa	30	50	80
Total	64	51	115

Sensibilidad : 53.1 %

Valor Predictivo Positivo: 97.1 %

Especificidad : 98 %

Valor Predictivo Negativo: 62.5 %

INFLUENZA B

Virus Culture	Positiva	Negativa	Total
Influenza A (&B) Respi Strip	13	0	13
Positiva	13	0	13
Negativa	5	237	242
Total	18	237	255

Sensibilidad : 72,2 %

Valor Predictivo Positivo: 100%

Especificidad: 100 %

Valor Predictivo Negativo: 98 %

C. Repetibilidad

Para comprobar la exactitud de la intra-lotes, las mismas muestras positivas y la solución tampón diluyente han sido procesado 15 veces en tiras del mismo lote de producción bajo las mismas condiciones experimentales. En Todos los casos, los resultados observados fueron, según lo esperado.

Para comprobar la exactitud de la inter-lotes, las mismas muestras positivas y la solución tampón diluyente han sido procesado 3 lotes diferentes. En Todos los casos, los resultados observados fueron, según lo esperado

D. Interferencias:

Los patógenos siguientes han sido probados para buscar reactividades cruzadas posibles: Adenovirus, HSV, Parainfluenza, Enterovirus, Rhinovirus, Nocardia asteroides, Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Streptococcus pyogenes, Aspergillus niger, Legionella pneumophila, Candida albicans, Haemophilus influenzae. También se realizaron pruebas con el Staphylococcus aureus y se obtuvieron resultados positivos con altas concentraciones bacterianas (aproximadamente 10⁹ CFU/mL)

XI. LIMITACIONES DEL KIT

Los resultados obtenidos por INFLU A&B Respi-Strip deberán de ser comparados con el resto de la información clínica disponible.

Un test positivo no descarta la presencia de otro patógeno en la muestra.

INFLU A&B Respi-Strip es un test de screening de la fase aguda. Muestras de NPS que sean recogidas después de esta fase, pueden contener concentraciones antigénicas por debajo del umbral de sensibilidad del reactivo. Si la muestra produjera un resultado negativo, a pesar de la observación de síntomas. Se recomendará la realización de un cultivo para confirmar el resultado.

Última actualización de las instrucciones de uso : Noviembre del 2005

IFU-5412/SP

Rev : 00

Productor :

CORIS BIOCONCEPT

Science Park – CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLoux
BELGIUM

Tel : +32(0)81.719.917
Fax : +32(0)81.719.919
E – mail : info@corisbio.com
<http://www.corisbio.com>

XII. BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Church, D. L., Davies, H. D. et al. (2002). "Clinical and economic evaluation of rapid influenza A virus testing in nursing homes in calgary, Canada." Clin Infect Dis 34(6):790-5.

2. Cox, N. J. and Subbarao, K. (2000). "Global epidemiology of influenza: past and present." Annu Rev Med 51: 407-21.

3. Hayden, F. G. and Palese, P. (2002). Influenza Virus, pp. 891-920, in: Clinical Virology, D. D. Richman, R. J. Whitley and F. G. Hayden, eds. Washington, ASM Press.

4. I. Renuart, P. Mertens and T. Leclipteux. 2002. "An immunochromatographic test for the detection of Influenza-A Virus." European Biotech Crossroads, October 2002, Lille, France.

5. M. Lynch "Prospective evaluation of an optical immunoassay for detection of Influenza during the 1999-2000 seasons." Clinical Virology Laboratory, Fairview-University Medical Center, University of Minnesota, Minneapolis, MN.

6. P. Mertens, S. Degallaix, L. Denorme, C. Olungu, Th Leclipteux. 2002. " The Inf A/B TWO SIDED Respi-Strip, an innovative immunochromatographic device for the detection of Influenza A and B viruses." MEDICA, November 2004, Dusseldorf, Germany.

