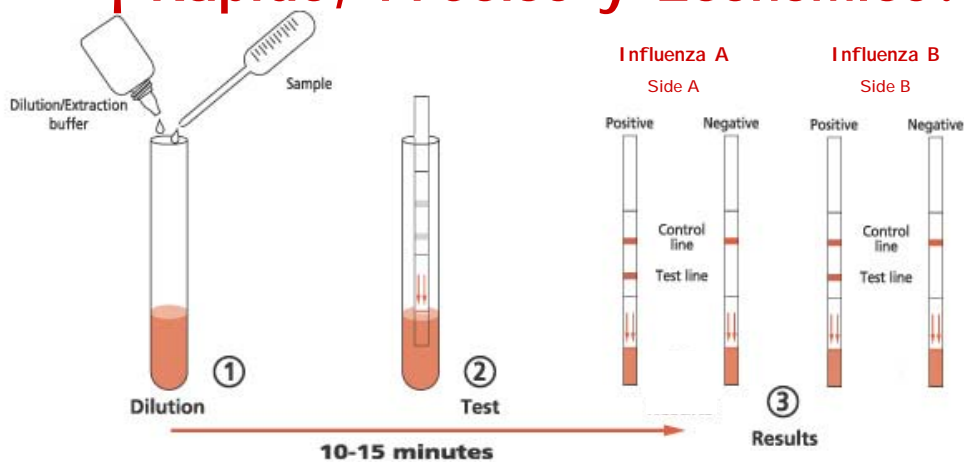


INFLU-A+B RESPI-STRIP

Test Inmunocromatográfico para la detección del Virus Influenza A y B en secreciones nasofaríngeas

- Análisis Simple de la muestra
- No requiere automatización
- Mínima manipulación de la muestra
- Fácil de interpretar

¡ Rápido, Preciso y Económico!



Influenza A (Cara A)

CARACTERÍSTICAS (Comparado con un kit Comercial rápido (sobre 237 muestras)

Especificidad: 88%* VPP : 78%*
Sensibilidad : 99% VPN: 99%

De las 20 muestras que fueron consideradas como « POSITIVAS » con Influ A+B Respi-Strip y negativas con el test comercial 14 se confirmaron POSITIVAS al realizarles la prueba RT-PCR.

NIVEL DE DETECCIÓN: 3,125 10X⁶ vp/mL

CARACTERÍSTICAS (Comparado por Amplificación Molecular (RT-PCT) (237 muestras)

Especificidad: 93 %* VPP : 94 %
Sensibilidad : 51 % VPN: 45 %

Influenza B (Cara B)

CARACTERÍSTICAS (Comparado con cultivos celular (sobre 255 muestras)

Especificidad: 100% VPP : 100%
Sensibilidad : 72.2% VPN: 98%

NIVEL DE DETECCIÓN: 1,25 x 10⁷ vp/mL

Virus de la Gripe A y B - Introducción

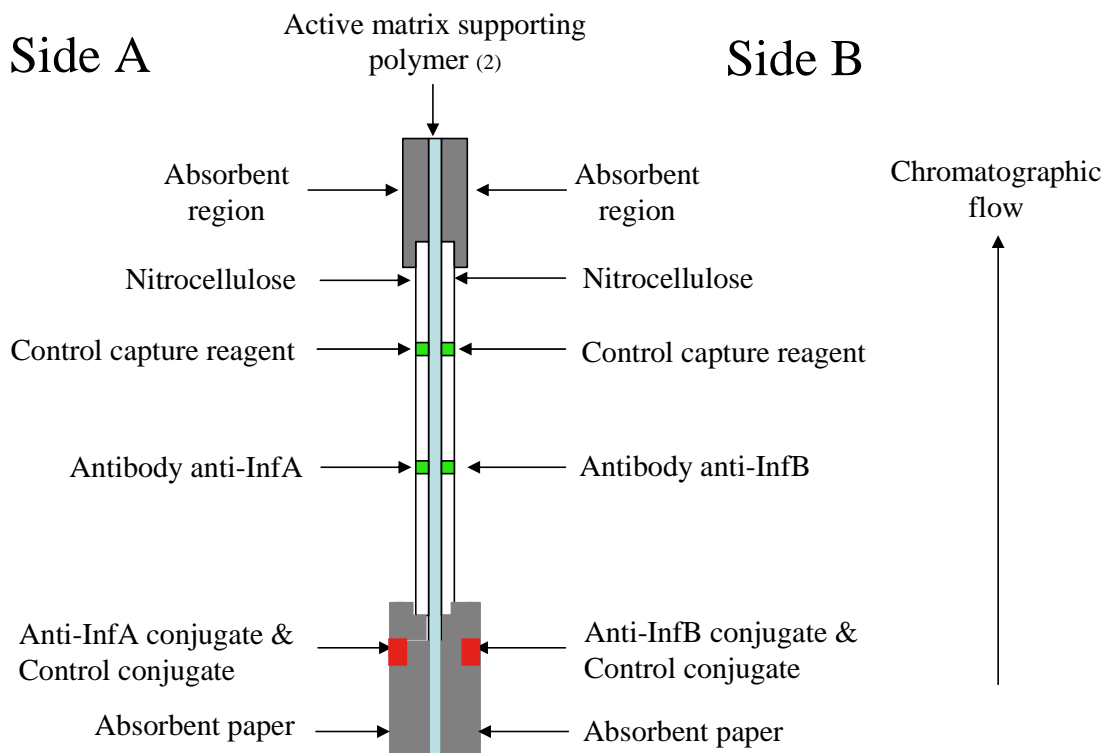
La gripe es una infección viral altamente contagiosa del tracto respiratorio superior, caracterizada por su variabilidad antigénica, la estacionalidad y el impacto sobre la población en general. De los dos principales tipos de virus de la gripe (A y B), subtipos de la gripe A son diferenciados por la variabilidad de antígenos glicoproteínicos sobre su superficie, [hemaglutininas (15 subtipos) y neuraminidasa (9 subtipos)]. La gripe A es la más frecuente y se asocia a las epidemias más serias.

El virus de la gripe B causa generalmente una enfermedad de menor importancia, pero tiene el potencial de causar una enfermedad más severa en personas ancianas. La incapacidad de proporcionar la protección duradera a los seres humanos contra la infección del virus de la gripe B es debida, en parte, a la deriva antigénica de la glicoproteína superficial viral, hemaglutinina (HA).

Material Innovador

El dispositivo MULTICROMATOGRÁFICO del Coris (patente pendiente) permite detectar rápidamente múltiples patógenos con solamente una manipulación. Este dispositivo presenta dos hojas de la nitrocelulosa laminadas sobre una misma matrix polimérica (soporte). Esta configuración permite la detección múltiple los patógeno en ambos lados de la tira.

Multichromatography Test device (2 sided nitrocellulose laminate)



Estabilidad : 18 meses

Información y Pedidos:

Almacenaje: entre 4°C – 37°C

Influ A&B Respi – Strip

(Test Inmuno-cromatográfico " In Vitro" para detección del Virus de la Gripe (Influenza) tipo A y B en torunda ó Secreciones Naso-faríngeas)

REF. 7044D01100

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 subtipos de la gripe A son especialmente diferenciados por la alta variabilidad de los antígenos de las glicoproteínas superficiales (hemaglutininas y neuraminidasa). 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.

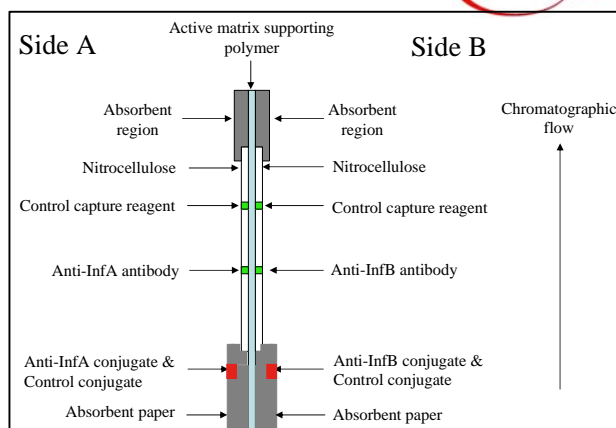
II. PRINCIPIO DEL TEST

El test consiste en un ensayo Inmuncromatográfico lista 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 una segunda **Zona Control** conteniendo anticuerpos Anti- IgG de ratón 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.

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 una segunda **Zona Control** conteniendo anticuerpos Anti- IgG de ratón 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

- 25 TIRAS **Fastia Influenza A&B RESPI-STRIP**

Cada varilla está sensibilizada en un lado con Ac monoclonales de ratón frente al virus de la Gripe A, y en el otro lado con Ac monoclonales de ratón frente al virus de la Gripe B. En ambos lados, además contiene un suero policlonal de cabra frente a IgG de ratón. El Conjugado contiene partículas de oro coloidal unidas ligadas a Ac monoclonales frente a los antígenos del núcleo proteínicos de la gripe A o de B. 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.

- Buffer de Dilución (frasco gotero 15 ml)

Contiene solución Tamponada salina a Ph 7.5: ($NaN_3 < 0,1\%$), detergente y compuestos proteínicos.

- Indicaciones para el uso.

-MATERIAL NO SUMINISTRADO

- Tubos de 3 – 5 ml

-MATERIAL DISPONIBLE OPCIONAL

- Control Positivo Inflú A&B ref.: 7044DC1092

IV PRECAUCIONES ESPECIALES

- Todas Las operaciones ligadas al uso de este test deberán de ser realizadas de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio.
- El test Inflú A&B Respi-Strip es para diagnóstico "In Vitro" exclusivamente.
- Evitar tocar directamente con los dedos las tiras de nitrocelulosa.
- Emplear guantes durante la manipulación de las muestras.
- Desechar los guantes, isopos, tubos-test y tiras sensibilizadas de acuerdo con las GLP (Good Laboratory Practices).
- Nunca usar reactivos procedente de otros kits.
- El frasco conteniendo las tiras sensibilizadas deberá de cerrarse tan pronto se hayan obtenido el número 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.
- Dos líneas verdes a ambos lados de la tira indica el lugar de adsorción de los anticuerpos. Estas desaparecerán durante el transcurso del test.
- Descartar el empleo de la Solución Tamponada de extracción si esta se contaminara por bacterias u hongos.
- La calidad de los reactivos no podrá ser garantizada una vez sobrepasada 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 de Fastia, **cuando** todavía no está abierto, podrá mantenerse entre 4-37 C° y usado hasta la fecha indicada en el envase.

Las tiras y la Sol. Tamponada de Extracción suministradas con INFLU A&B Respi-Strip de Fastia se mantienen estables 12 meses mientras no sea abierto y se mantengan bajo las condiciones anteriormente descritas. **Una vez abierto el kit es estable 15 semanas** si se mantienen entre 4° y 37° C. y en ambiente libre de humedad. No congelar este kit.

VI. MUESTRA

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 del transporte no se ha validado en el **Inflú 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 °C hasta 6 horas o -20 °C por períodos del tiempo más largos nunca exceder de 1 mes. Cerciórese de que las muestras no han sido tratadas con las soluciones conteniendo formaldehído o derivados.

2) La recolección a través de torunda nasal no es reconocido como un buen

método de toma de muestra para la gripe debido a la gran variación de las partículas de la gripe en la torunda. Por lo tanto no sugerimos el uso de torundas. Si, por cualquier razón, se utilizan las torundas, CORIS no podrá garantizar la misma exactitud que para las muestras obtenidas de NPS.

3) Es altamente recomendable evitar el uso del esputo.

VII. PROCEDIMIENTO

Preparación:

- Si el test INFLU A&B Respi-Strip de Fastia a 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:

Aspirado o Lavado Nasofaríngeo:

1. Si la muestra a ensayar es líquida, añadir **0,25 ml (8 gotas) de Solución Buffer de Extracción** en cada uno de los tubos y **0,25 ml de muestra** a fin de conseguir un ratio de dilución de 1/2.

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 homogeneización.
- Introducir la tira sensibilizada en la dirección indicada por las flechas.
- **Mantener la tira dentro del tubo** hasta a la finalización de la reacción **15 minutos**, (con un máximo de 20 minutos) antes de proceder a la interpretación de los resultados.

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. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

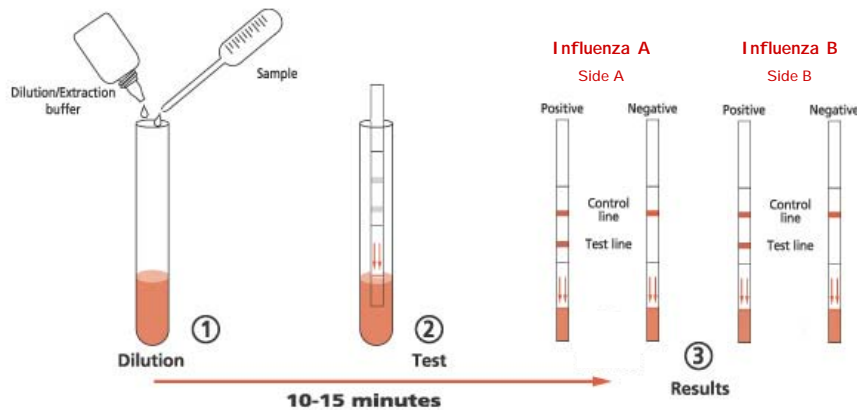
El lado de la tira de color **púrpura** es específico del el Virus **de la Gripe A**

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

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* ref.: 7044DC1092 en el cual la tira sensibilizada es introducida. **Cada control positivo deberá de ser procesado directamente como una muestra en solución lista para su uso.**

IX. CARACTERÍSTICAS

A - Detectabilidad:

El nivel de detectabilidad ha sido evaluado en 3.125×10^6 vp/mL para la Gripe A y 1.25×10^7 pv/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 237 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 Influenza A (&B) Respi Strip	Positiva	Negativa	Total
Positiva	69	20*	89
Negativa	1	147	148
Total	70	167	237

Sensibilidad: 99 %

Valor Predictivo Positivo: 78 %

Especificidad: 88 %

Valor Predictivo Negativo: 99 %

*De las 20 muestras que fueron informadas como POSITIVAS con Influenza A & B Respi Strip y NEGATIVAS por el test rápido comercial, 14 fueron posteriormente confirmadas como positivas empleando la técnica RT-PCR.

• RT-PCR • Influenza A (&B) Respi Strip	• Positive	• Negative	• Total
• Positive	• 84	• 5	• 89
• Negative	• 82	• 66	• 148
• Total	• 166	• 71	• 237

Sens

ibilidad: 51%

Valor Predictivo Positivo: 94,3 %

Especificidad: 93 %

Valor Predictivo Negativo: 45 %

INFLUENZA B

• Virus Culture • Influenza A (&B) Respi Strip	• Positive	• Negative	• Total
• Positive	• 13	• 0	• 13
• Negative	• 5	• 237	• 242
• Total	• 18	• 237	• 255

Sensibilidad: 72,2 %

Valor Predictivo Positivo: 100%

Especificidad: 100 %

Valor Predictivo Negativo: 98 %

C - Repetitividad

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.

No se ha observado ninguna reacción cruzada.

X. 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 screenig 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.








XI. 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.



CORIS BIOCONCEPT
E-mail : info@corisbio.com BELGIUM

Distribuido por:

REF	Referencia de producto		Fabricado por:
IVD	Producto Médico para Uso In Vitro		Límites de temperatura
	Contiene material suficiente para $<n>$ tests	DIL SPE	Dilución de muestra
	Consultar Instrucciones de uso		No Re-utilizar
	Mantener en seco		Fecha Caducidad
DIL AS	Ensayo con diluyente	CONT NaN3	Contiene Azida Sódica