



INT-017

INFORME TÉCNICO CERTEST INFLUENZA A+B TEST

INFORME TÉCNICO

CerTest

INFLUENZA A+B Test



Prueba de un solo paso para la detección de antígenos de Influenza tipo A y tipo B a partir de muestras nasales con hisopo, de lavado nasal o de aspirados nasales.

**CONTENIDOS**

1	PRODUCTOS REGISTRADOS (CÓDIGO EDMS).....	3
1.1	DESCRIPCIÓN DE ENVASES.....	3
1.1.1	<i>Packing (outer container):</i>	4
1.1.2	<i>Etiquetas:</i>	4
2	INTRODUCCIÓN	6
2.1	USO PREVISTO.....	6
2.2	FUNDAMENTO DEL TEST	6
2.3	REACTIVOS Y COMPONENTES DEL KIT	7
2.4	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	7
2.5	PROCEDIMIENTO	8
2.5.1	<i>Muestras</i>	8
2.5.2	<i>Procedimiento para Card Test:</i>	8
2.5.3	<i>Procedimiento para test en tubo:</i>	10
2.5.4	<i>Procedimiento para blister test:</i>	11
3	DISPOSITIVO REACTIVO.....	13
3.1	DESCRIPCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL TEST	13
3.2	ENVASADO EN POUCHES:	14
3.3	ENVASADO EN TUBOS:	14
3.4	ENVASADO EN “BLISTER”:.....	14
4	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	15
4.1	POSITIVO	17
4.2	NEGATIVO	17
4.3	INVALIDO	17
4.4	OBSERVACIONES.....	17
4.5	CONTROL DE CALIDAD.....	18
4.5.1	<i>Control de calidad interno</i>	18
4.5.2	<i>Control de calidad externo</i>	18
5	CARACTERÍSTICAS DEL TEST.....	19
5.1	SENSIBILIDAD	19
5.1.1	<i>Límite de detección</i>	19
5.2	ESPECIFICIDAD	20
5.3	ESTABILIDAD DEL TEST	20
5.3.1	<i>Estabilidad en el tiempo</i>	20
5.3.2	<i>Estabilidad en condiciones extremas</i>	20
5.3.3	<i>Resultados de la estabilidad del test</i>	21
5.4	LIMITACIONES	21
6	CONCLUSIONES	22
7	BIBLIOGRAFIA	23
8	ANEXOS.....	23

1 PRODUCTOS REGISTRADOS (CÓDIGO EDMS)

Nombre del producto	Nombre registrado	Código EDMS	Fecha de Registro
CerTest Influenza A+B Card			
CerTest Influenza A+B Tube	CerTest Influenza A+B	15.04.80.04.00	13/07/2005
CerTest Influenza A+B Blister			

Tabla 1 Productos registrados

1.1 DESCRIPCIÓN DE ENVASES

Nombre del producto	Envasado		Referencias
	Envase primario	Envase secundario	
CerTest Influenza A+B Card	Bolsas de aluminio	- Estuches	Z820001PC
		- In bulk	Z801099
CerTest Influenza A+B Tube	Tubos de plástico	- Estuche	Z950001A
		- In bulk	Z950099A
CerTest Influenza A+B Blister	Blister (láminas de aluminio)	- Estuches	Z720001APC
		- In bulk	Z710099A

Tabla 2 Envasado

Los *envases primarios* son los envases que protegen al producto de la humedad, de la contaminación y/o de cualquier deterioro.

Los *envases secundarios* pueden contener uno o varios envases primarios y sus accesorios.

CerTest Influenza A+B Test es sensible a la temperatura y la humedad, un adecuado envase puede controlar estas variables además de los materiales desecantes que se incluyen en el interior de los envases o se han incorporado a las tiras.

1.1.1 Packing (outer container):

Nº	Referencia	Tamaño	Etiqueta	Descripción	Producto
1	MA-0904	175x110x110	2x(85x85) Z820001Pce	Blanco auto-montable	20 tests + 20 tubos ensayo + 20 hisopos estériles + 1x10mL Reactivo A + 1x3mL Reactivo B+ 1 hisopo“control +” Influenza tipo A y B
2	MA-0902	65x36x110	1x(50x50) Z950001A	Estuche azul Auto-montable	1 tubo (1x50 tests) + 1x25mL DIL A + 1x8mL DIL B
3	MA-0904	175x110x110	2x(85x85) Z720001APCe	Blanco auto-montable	2 blister (20 tests) + 20 pipetas + 20 tubos de ensayo + 20 hisopos estériles + 1x10mL Reactivo A + 1x3mL Reactivo B+ 1 hisopo“control +” Influenza tipo A y B

Tabla 3 Envase secundario

1.1.2 Etiquetas:

Producto	Tamaño etiqueta	Referencia de etiqueta	Descripción	Contenido
Reactivo A Influenza A+B	1x(20x40)	Z101001Ae	Bote de color blanco+ etiqueta blanca franja lila	10 mL (solución salina)
	1x(20x40)	Z102501Ae	Bote de color blanco+ etiqueta blanca franja lila	25 mL (solución salina)
Reactivo B Influenza A+B	1x(20x40)	Z100301Be	Bote de color blanco+ etiqueta blanca franja lila	3 mL (reactivo muestra)
	1x(20x40)	Z100801Be	Bote de color blanco+ etiqueta blanca franja lila	8 mL (reactivo muestra)
Control + Swab	1x(35x50)	Z200201e	Bolsa de aluminio blanca con etiqueta Color blanco, marca CerTest en azul	Hisopo control + Influenza tipo A y tipo B + material desecante
Envase primario: INFLUENZA A+B Card		Mensaje impreso: FLU A+B LOT: Zxxx EXP: yyyy-mm	Bolsa de aluminio	1 test/pouche + 1 pipeta + 1 material desecante
Envase primario INFLUENZA A+B Tube	1x(85x85)	Z950001A	Tubo de plástico + etiqueta blanca marca CerTest en azul	1 tubo con 50 tests
Envase primario: INFLUENZA A+B Blister		Mensaje impreso: FLU A+B LOT: Zxxx EXP: yyyy-mm	Láminas de aluminio	10 tests/blister
Envase secundario: INFLUENZA A+B Card	2x(85x85)	Z820001PCe	Color: Blanco Marca en azul: “CerTest”	20 pouches (20 tests) + 20 testing tubes + 20 sterile swabs + 1x10mL Reagent A + 1x3mL Reagent B + “Control + Swab”
Envase secundario INFLUENZA A+B tube	1x(50x50)	Z950001e	Color etiqueta transparente	1 tubo/50 tests + 1x 25mL reactivo A + 1x8mL reactivo B.
Envase secundario: INFLUENZA A+B Blister	2x(85x85)	Z720001APCe	Color: Blanco Marca en azul: “CerTest”	2 blisters (20 tests) + 20 pipettes + 20 testing tubes + 20 sterile swabs + 1x10mL Reagent A + 1x3mL Reagent B + “Control + Swab”

Tabla 4 Descripción de etiquetas

BLISTER Z720001APCe		CASSETTE Z820001PCe	
DIL Z101001Ae	Z100301Be	Control Positivo Z200201e	
DIL Z102501Ae	Z100801Be	TUBE Z950001Ae	
TUBE Z950001e			
<p>(*) Esta información está incluida en el envase (MA-0902)</p>			

Tabla 5 Referencias internas y etiquetas

2 INTRODUCCIÓN

La gripe está causada por un virus (Influenza) que ataca principalmente la tracto respiratorio superior-nariz, garganta y bronquios y también aunque más raramente a los pulmones. La infección normalmente dura una semana. Está caracterizada en su inicio por fiebre elevada, mialgia, dolores de cabeza y gran malestar, tos no productiva, dolor de garganta y rinitis. La mayoría de la gente se recupera en una o dos semanas sin requerir ningún tratamiento médico. Para los niños, ancianos y personas que padecen afecciones pulmonares, diabetes, cáncer, afecciones de riñón o problemas de corazón, influenza puede ocasionar un riesgo serio. En estas personas esta infección puede provocar graves complicaciones de otras enfermedades, neumonía y muerte.

Normalmente los virus de Influenza que causan enfermedad en humanos se dividen en dos grupos: A y B. Influenza A tienen 2 subtipos que son importantes para humanos: A (H3N2) y A (H1N1), de los cuales el primero es el que está directamente asociado a la mayor parte de las muertes. Los virus de Influenza se caracterizan por 2 componentes proteicos diferentes, conocidos como antígenos, localizados en la superficie del virus, llamados hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N).

2.1 USO PREVISTO

CerTest Influenza A+B Test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de antígenos de Influenza tipo A y tipo B. Puede utilizarse con hisopos con muestras directamente de la nariz o de lavados o aspirados nasales.

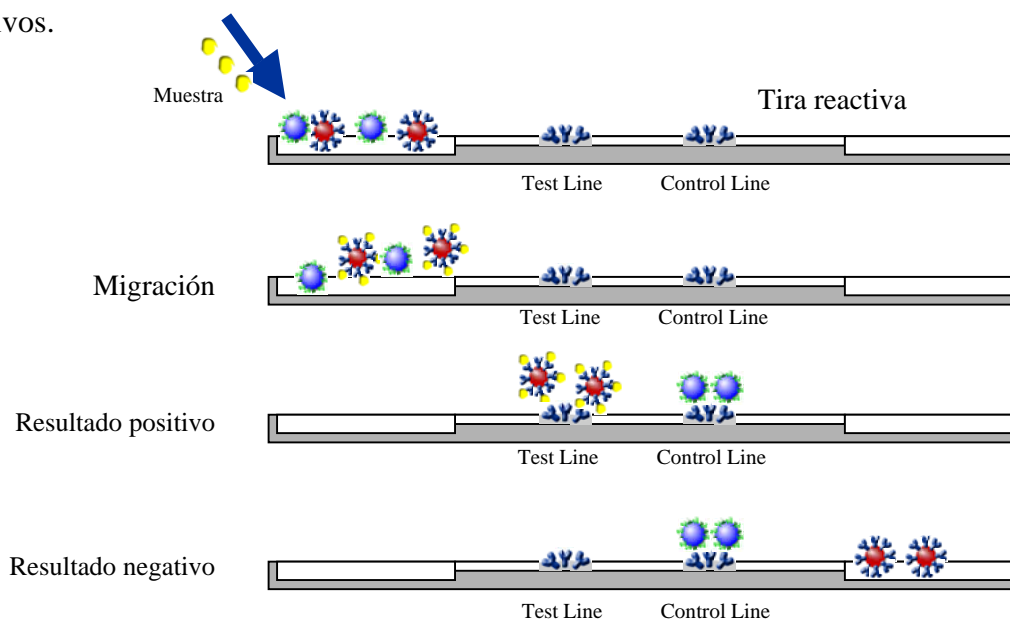
Este producto es sólo para uso profesional de diagnóstico “in vitro”.

2.2 FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest Influenza A+B Test es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de antígenos de Influenza tipo A y tipo B. Previamente en la membrana del test se fijan anticuerpos monoclonales de ratón, en la zona de resultados, para reconocer estos antígenos.

Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-Influenza tipo A-microesferas rojas y anti-Influenza tipo B-microesferas azules) previamente secados en el test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, una o dos líneas de color ROJO/AZUL aparecerán en la zona de resultados de

la membrana. La ausencia de estas líneas sugieren un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de antígenos, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color verde (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.



2.3 REACTIVOS Y COMPONENTES DEL KIT

Para realizar esta prueba se necesita un test y todos los componentes del kit, necesarios para obtener la muestra.

El reactivo A es una solución salina y el reactivo B es el tampón para muestra que contiene NaN_3 como conservante en concentraciones inferiores a 0.1% (<10% w/w).

Las muestras se deben considerar como potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.

2.4 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30° C en su envase original sellado blister, tubo o pouch, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en cada blister, tubo o pouch. No debe abrirse hasta el momento de su uso. Guardar el resto de los tests con cuidado para que la fecha de caducidad se lea perfectamente en cada envase individual. No congelar.

MUY IMPORTANTE (tubos): mantener siempre bien cerrado el tubo con los tests. Una vez que el sellado se rompa, conservar el tubo con los tests a temperatura ambiente, nunca volver a refrigerar para evitar la condensación de agua.

2.5 PROCEDIMIENTO

2.5.1 Muestras

Muestras de hisopos nasales

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

Muestras lavado o aspirado nasal

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

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

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

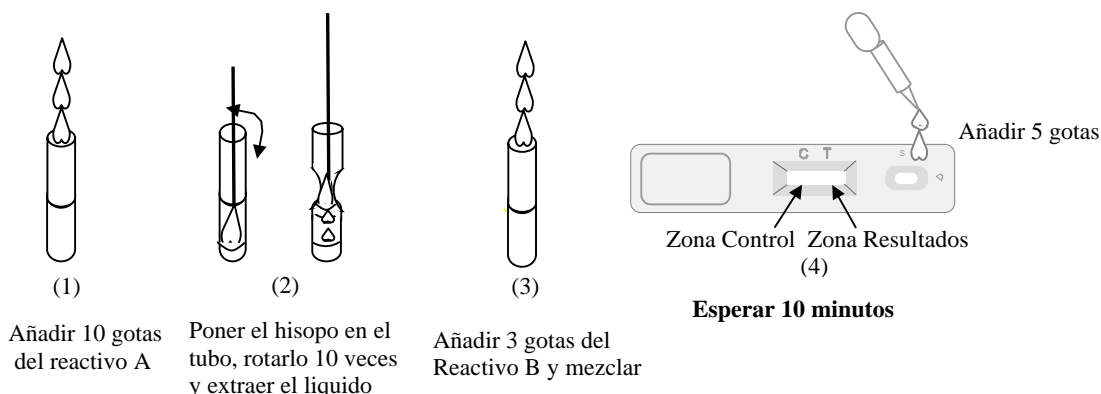
2.5.2 Procedimiento para Card Test:

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

Procedimiento A usando muestra a partir de hisopo nasal:

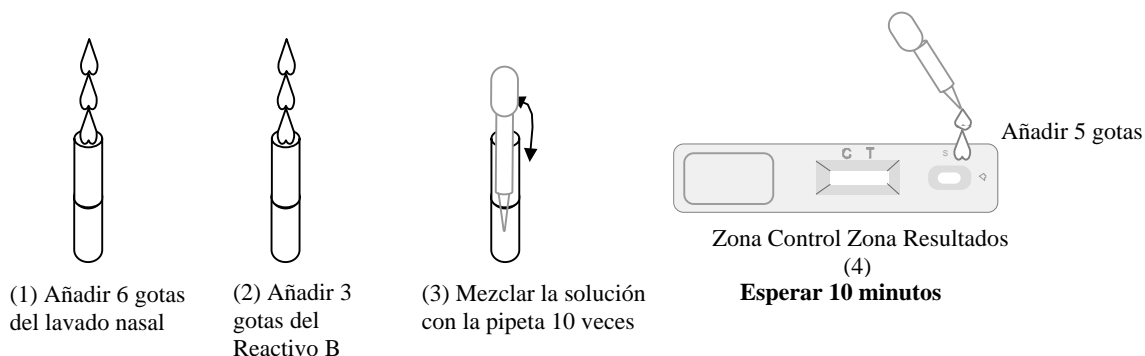
1. Añadir 10 gotas (1) del Reactivo A y poner inmediatamente el hisopo dentro del tubo.
2. Agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos 10 veces. Se obtendrán mejores resultados si la muestra

- es extraída de forma vigorosa (2). Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionándolo contra las paredes del tubo. Tirar el hisopo.
- Añadir 3 gotas del reactivo B (3). Mezclar la solución con la pipeta proporcionada con el test unas 10 veces.
 - Sacar el test de su envase en el momento antes de utilizarlo.
 - Colocar el test en una superficie plana. Usar la pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar 5 o 6 gotas o 125 μL a partir del tubo de ensayo, en la ventana circular marcada con una flecha (4).
 - Leer el resultado a los 10 minutos.



Procedimiento B utilizando lavados o aspirados nasales:

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

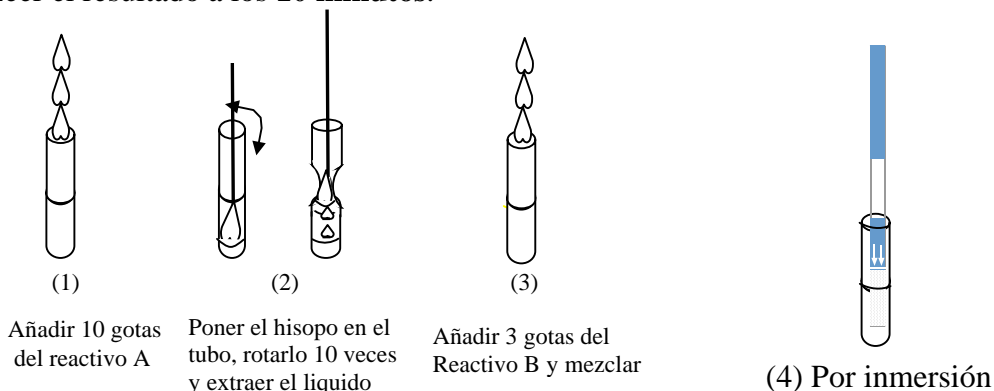


2.5.3 Procedimiento para test en tubo:

Previamente los tests, los hisopos y las muestras se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 °C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba. Pasos a seguir:

Procedimiento A usando muestra a partir de hisopo nasal:

1. Añadir 10 gotas (1) del Reactivo A y poner inmediatamente el hisopo dentro del tubo.
2. Agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos 10 veces. Se obtendrán mejores resultados si la muestra es extraída de forma vigorosa (2). Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionando las paredes del tubo. Tirar el hisopo.
3. Añadir 3 gotas del reactivo B (3). Mezclar la solución con la pipeta proporcionada con el test unas 10 veces.
4. Llevar a temperatura ambiente el tubo con los tests antes de abrirlo. Abrir el tubo y sacar los tests necesarios. Inmediatamente, cerrar el tubo fuertemente, los tests se deben utilizar en el tiempo más corto posible.
5. Introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra (4). No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas.
6. Leer el resultado a los **10 minutos**.



Procedimiento B utilizando lavados o aspirados nasales:

1. Añadir 6 gotas (1) del lavado o aspirado nasal con la pipeta proporcionada con el test y añadir 3 gotas (2) del reactivo B en un tubo de ensayo.
2. Mezclar la solución con la pipeta unas 10 veces. Se obtienen mejores resultados si la muestra es extraída vigorosamente (3).
3. Llevar a temperatura ambiente el tubo con los tests antes de abrirlo. Abrir el tubo y sacar los tests necesarios. Inmediatamente, cerrar el tubo fuertemente, los tests se deben utilizar en el tiempo más corto posible.

4. Introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra (4) . No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas.

5. Leer el resultado a los 10 minutos.



(1) Añadir 6 gotas del lavado nasal



(2) Añadir 3 gotas del reactivo B



(3) Mezclar la solución con la pipeta 10 veces



(4) Por inmersión

2.5.4 Procedimiento para blister test:

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

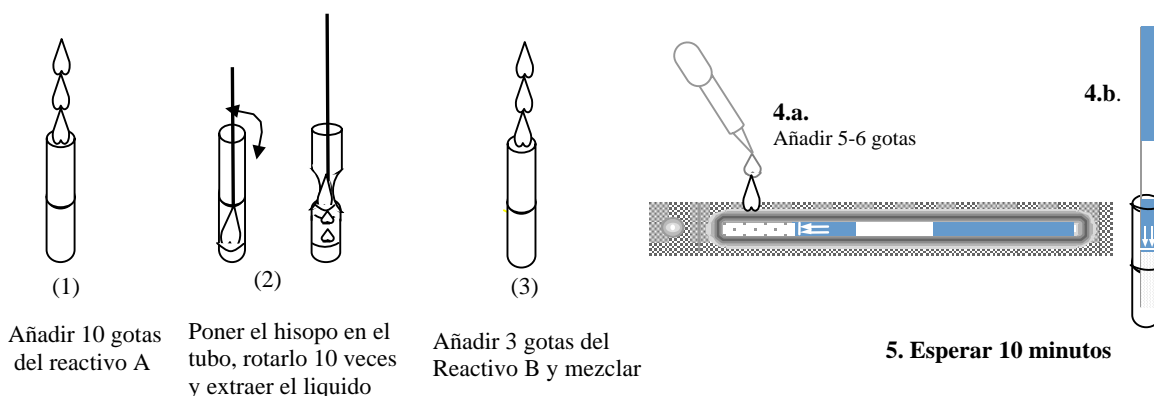
1. Añadir 10 gotas (1) del Reactivo A y poner inmediatamente el hisopo dentro del tubo.
2. Agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos 10 veces. Se obtendrán mejores resultados si la muestra es extraída de forma vigorosa (2). Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionando las paredes del tubo. Tirar el hisopo.

3. Añadir 3 gotas del reactivo B (3). Mezclar la solución con la pipeta proporcionada con el test unas 10 veces.

4. Se corta el blister para obtener cada test en un envase individual (cada test está envasado de manera independiente a los demás). Para abrir este envase se coge el extremo no sellado de la lámina superior y se tira de él hasta que se vea el test completamente, éste debe usarse en el tiempo más corto posible.

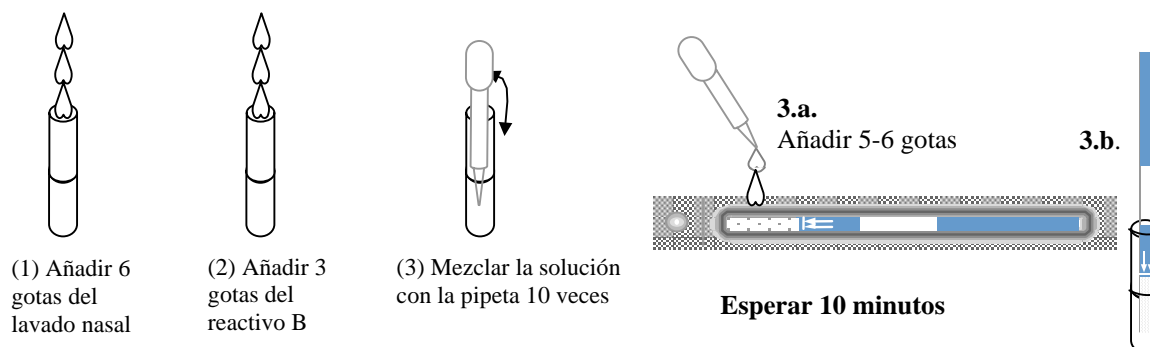
4.a. No sacarlo de su pocillo (identificar uno a uno los pocillos del blister). Colocar el test en una superficie plana. Usar una pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar 5 o 6 gotas o 125 µL a partir del tubo de ensayo en la zona blanca del extremo del test (4a). **Leer a los 10 minutos.**

4.b. Introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra (4b). No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas. **Leer el resultado a los 10 minutos.**



Procedimiento B utilizando lavados o aspirados nasales:

1. Añadir 6 gotas (1) del lavado o aspirado nasal con la pipeta proporcionada con el test y añadir 3 gotas (2) del reactivo B en un tubo de ensayo.
2. Mezclar la solución con la pipeta unas 10 veces. Se obtienen mejores resultados si la muestra es extraída vigorosamente (3).
3. Se corta el blister para obtener cada test en un envase individual (cada test está envasado de manera independiente a los demás). Para abrir este envase se coge el extremo no sellado de la lámina superior y se tira de él hasta que se vea el test completamente, éste debe usarse en el tiempo más corto posible.
 - 3.a. No sacarlo de su pocillo (identificar uno a uno los pocillos del blister). Colocar el test en una superficie plana. Usar una pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar 5 o 6 gotas o 125 µL a partir del tubo de ensayo en la zona blanca del extremo del test (4a). **Leer a los 10 minutos.**
 - 3.b. Introducir el test verticalmente de forma que la parte blanca contacte con la muestra (4b). No sobrepasar el límite de inmersión marcado con las flechas. **Leer el resultado a los 10 minutos.**



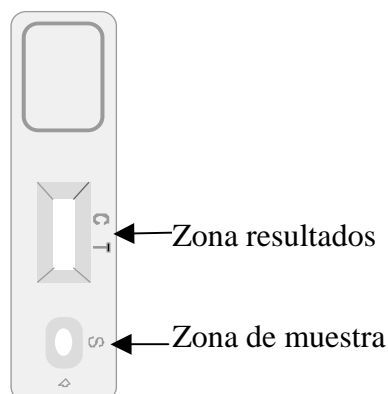
3 DISPOSITIVO REACTIVO

3.1 DESCRIPCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL TEST

CerTest Influenza A+B Card Test es un dispositivo de plástico que contiene una tira reactiva en su interior. La tira reactiva está formada por diferentes láminas de materiales.

El dispositivo tiene dos zonas de interés:

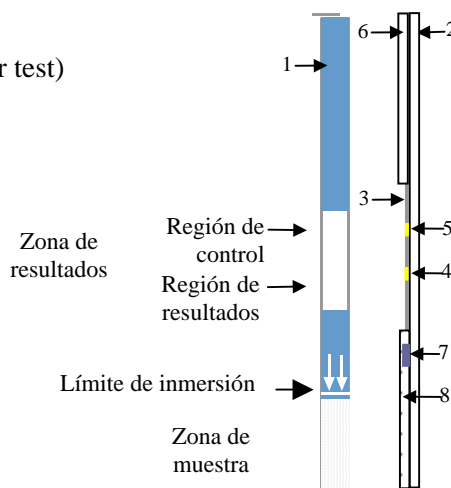
Influenza A+B Card



La tira reactiva tiene también dos zonas:

1. Zona de muestra: la parte blanca del borde que entra en contacto con la muestra.
2. Zona de resultados: la zona blanca intermedia donde aparecen las líneas de color.

- 1) Material protector de plástico
- 2) Backing (con material desecante blister test)
- 3) Membrana de nitrocelulosa
- 4) Anticuerpos inmobilizados
- 5) Línea de control
- 6) Material absorbente final
- 7) Conjugado coloreado
- 8) Material absorbente inicial



CerTest Influenza A+B Test

CerTest Influenza A+B Test se compone de una tira con varias capas: un absorbente, un material donde se han secado un conjugado de látex coloreado con anticuerpos contra antígenos, una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos fijados contra los antígenos y un absorbente de celulosa.

3.2 ENVASADO EN POUCHES:

Los pouches son bolsas de aluminio que protegen al producto de la humedad y de un posible daño, además se les introduce un material desecante (bolsas de sílica gel) junto con el producto.

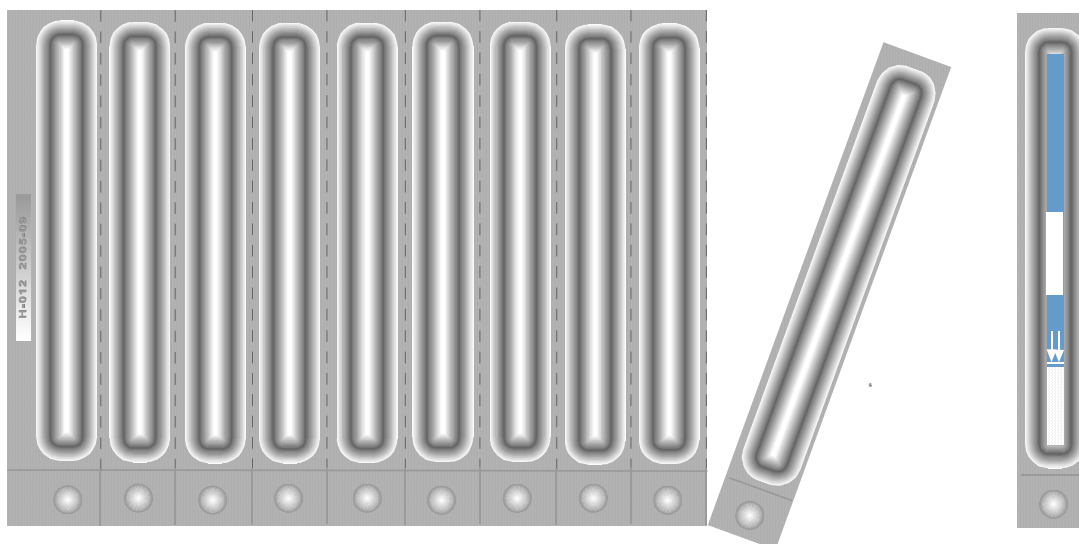
3.3 ENVASADO EN TUBOS:

Los envases son unos tubos de plástico que incorporan un material desecante en el tapón del tubo. Una vez sellados protegen a los tests de la humedad y de cualquier posible daño.

3.4 ENVASADO EN “BLISTER”:

Las tiras reactivas con el material desecante aseguran la estabilidad en condiciones de elevada humedad. Estas tiras reactivas se utilizan para el envasado en blister, haciendo innecesario incorporar ningún otro material desecante en su interior.

Blister es el envase que protege CerTest *H. pylori* Test de la humedad y de un posible deterioro. Está formado por dos láminas de aluminio (20 µm y 45 µm).



4 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Tan pronto como la muestra es añadida en la zona para muestra o la tira es sumergida en la muestra, el proceso cromatográfico comienza, las partículas de látex se mueven hacia la zona de resultados.

Si la muestra es Influenza B positiva, los antígenos tipo B de Influenza presentes reaccionan con los anticuerpos unidos a las partículas de látex coloidal. Cuando este complejo (partículas/anticuerpos/antígenos tipo B de Influenza) alcanza la primera línea en la zona de resultados, este complejo reacciona contra los anticuerpos inmovilizados anti-antígenos tipo B de Influenza, produciendo una banda azul, la cual aumenta la intensidad de color mientras transcurre el proceso cromatográfico y con la concentración de antígenos.

Si la muestra es Influenza A positiva, los antígenos tipo A de Influenza presentes reaccionan con los anticuerpos unidos a las partículas de látex coloidal. Cuando este complejo (partículas/anticuerpos/antígenos tipo A de Influenza) alcanzan la segunda línea de la zona de resultados, este complejo reacciona contra los anticuerpos inmovilizados anti-antígenos tipo A de Influenza, produciendo una banda roja, la cual aumenta la intensidad de color mientras transcurre el proceso cromatográfico y con la concentración de antígenos.

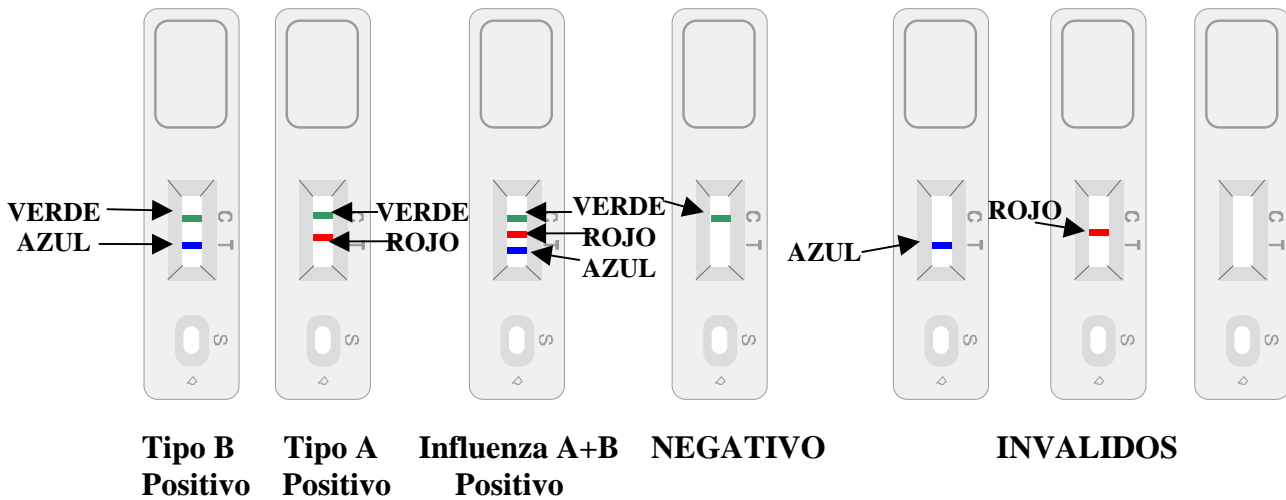
Si la muestra es Influenza tipo A y tipo B positiva, los antígenos tipo A y tipo B reaccionan con los anticuerpos unidos a las partículas rojas y azules de látex coloidal. Cuando este complejo (partículas/anticuerpos/antígenos) alcanza la primera línea en la zona de resultados los antígenos tipo B reaccionarán con los anticuerpos inmovilizados anti-tipo B, produciendo una línea azul. Cuando el complejo alcanza la segunda línea en la zona de resultados los antígenos tipo A reaccionarán con los anticuerpos inmovilizados anti-tipo A, produciendo una línea roja. La intensidad del color de las líneas aumentará durante el proceso cromatográfico y con la concentración de los antígenos.

Si la muestra es negativa, no hay antígenos que reaccionen con los anticuerpos unidos a las partículas rojas y azules de látex coloidal. Cuando estas partículas alcanzan la zona de resultados, no hay interacción con los anticuerpos inmovilizados allí (anti-antígenos tipo A y tipo B). La línea permanece invisible mientras el proceso cromatográfico avanza

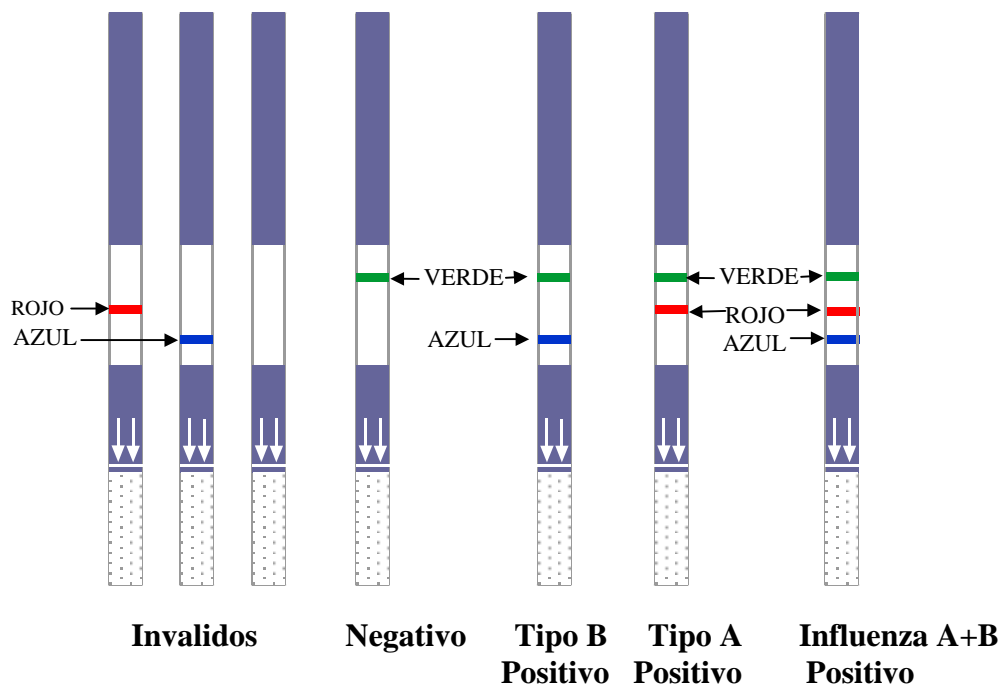
INFORME TÉCNICO CERTEST INFLUENZA A+B TEST

En ambos casos, las partículas verdes que no han sido retenidas en la primera ni en la segunda línea de la zona de resultados continúan avanzando cromatográficamente hasta la tercera línea, donde reaccionan produciendo una línea verde (línea de control).

La interpretación de los resultados se explica a continuación:



CerTest Influenza A+B Card



CerTest Influenza A+B Tube/Blister Test

4.1 POSITIVO

Influenza B POSITIVO: Dos líneas aparecen en la zona de resultados, una azul y otra verde (línea de control). La intensidad de la línea de resultados depende de la concentración de antígenos tipo B que contenga la muestra.

Influenza A POSITIVO: Dos líneas aparecen en la zona de resultados, una roja y otra verde (línea de control). La intensidad de la línea de resultados depende de la concentración de antígenos tipo A que contenga la muestra.

Influenza A+B POSITIVO: Tres líneas aparecen en la zona de resultados: una azul (positivo para tipo B), una roja (positivo para tipo A) y una línea verde (línea de control) en la zona superior. La intensidad de color de las líneas de resultados dependerá de la concentración de antígenos tipo A y tipo B que contenga la muestra.

4.2 NEGATIVO

Solamente una línea verde aparecerá en la zona de resultados.

4.3 INVALIDO

No aparecerán líneas en la zona de resultados. Otros casos serán inválidos cuando aparezcan dos líneas del mismo color (dos líneas rojas, dos líneas azules o dos líneas verdes), o una única línea roja o una única azul, o dos líneas de distinto color (una roja y otra azul).

Estos resultados inválidos pueden ser debidos a un deterioro de los reactivos o por un manejo incorrecto. En este caso, el test debería ser repetido con nuevos dispositivos o tiras reactivas.

4.4 OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color rojo y/o azul en la zona de resultados del test variará dependiendo de la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

4.5 CONTROL DE CALIDAD

4.5.1 Control de calidad interno

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

4.5.2 Control de calidad externo

Cada kit contiene un control positivo. Se usa para comprobar que los reactivos y el test funcionan correctamente. Y también para comprobar que se sigue el procedimiento descrito de forma correcta.

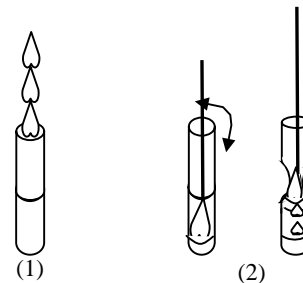
Procedimiento para control de calidad:

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

1. Añadir 15 gotas (1) del Reactivo A y poner inmediatamente el Control + Swab dentro del tubo.

2. Agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos 10 veces (2). Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionando las paredes del tubo. Tirar el hisopo.

3. Continuar según las instrucciones indicadas en los apartados anteriores (2.5.2 y 2.5.4).



Añadir 15 gotas
Reactivo A

Poner el Control + Swab en
el tubo, rotarlo 10 veces y
extraer el líquido

▪ **Resultados del control +:**

Influenza A+B POSITIVOS: Todos las líneas descritas en el apartado 4.1 (una línea VERDE control en la zona de control y una línea ROJA y una AZUL en la zona de resultados) pueden aparecer al mismo tiempo durante el desarrollo del test debido a la presencia de antígenos de Influenza tipo A y tipo B.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) aparece sin que aparezca la/s línea/s de resultado/s (ROJA/AZUL), y cuando aparece cualquiera de las líneas de resultados (roja y/o azul). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

5 CARACTERÍSTICAS DEL TEST

5.1 SENSIBILIDAD

Diluciones diferentes de fragmentos de virus Influenza A y B fueron probadas directamente en el diluyente de muestra o en muestras nasales negativas para determinar la sensibilidad y especificidad de CerTest Influenza A+B Test.

Los extractos de los virus fueron de la cepa Influenza A/New Caledonia/20/99 (H1N1) y de la cepa Influenza B/Shanghai/361/2002.

La detección de Influenza tipo A y/o tipo B con CerTest Influenza A+B Test obtiene >99% de sensibilidad en comparación con otros test rápidos (QUIDEL Influenza A&B and BINAXNow Influenza A&B).

5.1.1 Límite de detección

Diferentes fragmentos o extractos de cepas del virus Influenza tipo A y tipo B:

- Cepa Influenza A/New Caledonia/20/99 (H1N1) (15 µg/mL hemagglutinin)
- Cepa Influenza A/Fujian/411/2002 (H3N2) (15 µg/mL hemagglutinin)
- Cepa Influenza B/Shanghai/361/2002 (15 µg/mL hemagglutinin)

Fueron diluidos en tampón de muestra y evaluados siguiendo las instrucciones de uso para determinar el límite de detección del test. Los resultados obtenidos fueron los siguientes utilizando 4 lotes diferentes:

	Conc HA. ng/mL	150	75	37.5	18.75	9.4	4.7	2.3	1.2	0
10'	Influenza A	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-
10'	Influenza B	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-

El límite de detección del test, utilizando una preparación de extractos de las cepas de virus anteriores, para Influenza **tipo A** es **4,7 ng/mL** de Hemagglutinina (HA) y para Influenza **tipo B** **18,75 ng/mL** de HA.

5.2 ESPECIFICIDAD

El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en el diseño de CerTest Influenza A+B Test asegura un alto grado de especificidad para la detección de antígenos de Influenza tipo A y tipo B.

La detección de antígenos de Influenza tipo A y/o B con CerTest Influenza A+B Test obtiene >99% de especificidad en comparación con otros test rápidos (QUIDEL Influenza A&B and BINAXNow Influenza A&B).

CerTest Influenza A+B Test (Linea Tipo B)	Otro test rápido			CerTest Influenza A+B Test (línea tipo A)	Otro test rápido		
	+	-	Total		+	-	Total
+	5	0	5	+	5	0	5
-	0	6	6	-	0	6	6
Total	5	6	11	Total	5	6	11

Estos valores preliminares deben ser tenidos en cuenta con precaución hasta que se obtengan más resultados de otras evaluaciones.

5.3 ESTABILIDAD DEL TEST

5.3.1 Estabilidad en el tiempo

Algunos productos fueron almacenados en bolsas termoselladas con sílica gel como material desecante a temperatura ambiente (18-28°C) y se testaron pasados diferentes periodos de tiempo (3, 12 y 24 meses).

5.3.2 Estabilidad en condiciones extremas

Este tipo de tests se diseñaron para almacenarse a temperatura ambiente durante su periodo de vida. La temperatura recomendada es entre 2 y 30°C.

Para comprobar el correcto funcionamiento del test pasado el tiempo, se testaron tres lotes durante un periodo de tiempo determinado y bajo unas condiciones extremas de temperatura, 45°C durante 5 días.

Los Tests mantienen sus propiedades incluso bajo condiciones extremas de temperatura.

5.3.3 Resultados de la estabilidad del test

Los materiales y reactivos que forman parte de los test son estables al menos 24 meses, determinando el periodo de validez del test a partir de dos años desde su fabricación.

La congelación y el almacenamiento en frío no afectan al funcionamiento del test. Sin embargo, los diluyentes no deberían ser sometidos a temperaturas de congelación; se recomienda, almacenarlos a temperaturas entre 2 y 8°C o a temperatura ambiente.

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado blister, tubo o pouch, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en cada blister, tubo o pouch.

5.4 LIMITACIONES

1. Una vez abierto el envase individual el test no debe usarse después de 2 horas.
2. Este test proporciona un diagnóstico de infección por Influenza A y/o B. Para confirmarlo deberían evaluarse por un especialista todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
3. CerTest Influenza A+B Test debería utilizarse sólo con hisopos de muestras de nariz o lavados o aspirados nasales. El uso de muestras tomadas de otros sitios o el uso de otras muestras como saliva, esputos u orina no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras nasales.
4. Un resultado negativo puede aparecer si la muestra es inadecuada o la concentración de antígeno está por debajo del límite de sensibilidad del test. Se recomienda que todos los resultados negativos se confirmen usando otro método.

6 CONCLUSIONES

CerTest Influenza A+B Test es un test rápido de un solo paso para la detección de antígenos de Influenza tipo A y tipo B en muestras nasales. Se presenta en un formato “listo para usar” y la interpretación de los resultados es muy sencilla. Para asegurar los mejores resultados, es necesario cumplir lo descrito en este informe y en las instrucciones de uso que acompañan al kit y almacenar el producto bajo las mejores condiciones, preferentemente en un almacén cuya temperatura ambiente esté entre 2 y 30° C.

Sin embargo, la alta sensibilidad de CerTest Influenza A+B Test, y aunque su especificidad sea también alta, puede mostrar en algunas ocasiones falsos positivos; en consecuencia, como regla general, todas las muestras que den resultados positivos deberían volverse a medir y ser comprobadas con otro método con la misma o mayor sensibilidad.

Esta prueba diagnostica una posible infección por virus Influenza, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

7 BIBLIOGRAFIA

1. Daniel E. Noyola, et al. Comparison of a New Neuraminidase Detection Assay with an Enzyme Immunoassay, Immunofluorescence, and Culture for Rapid Detection of Influenza A and B Viruses in Nasal Wash Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Mar. 2000, p. 1161–1165 Vol. 38, No. 3
2. Adriana Weinberg and Miranda L. Walker. Evaluation of Three Immunoassay Kits for Rapid Detection of Influenza Virus A and B. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*, Mar. 2005, p. 367–370 Vol. 12, No. 3
3. Andreea C. Cazacu, Gail J. Demmler et al. Comparison of a New Lateral-Flow Chromatographic Membrane Immunoassay to Viral Culture for Rapid Detection and Differentiation of Influenza A and B Viruses in Respiratory Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Aug. 2004, p. 3661–3664 Vol. 42, No. 8.
4. Kenneth E. Irmen and James J. Kelleher. Use of Monoclonal Antibodies for Rapid Diagnosis of Respiratory Viruses in a Community Hospital. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, May 2000, p. 396–403 Vol. 7, No. 3.

8 ANEXOS

Annex I: Interpretation for the symbols used

+	Línea intensa y homogénea, resultado positivo
±	Línea poco intensa y/o homogénea, resultado positivo
-	No aparece línea, resultado negativo

 <p>Producto para diagnóstico <i>in vitro</i></p>  <p>Consultar las instrucciones de uso</p>  <p>Almacenar en lugar seco</p>  <p>Limitación de temperatura</p>  <p>Fecha de caducidad (aaaa-mm: año y mes)</p>	 <p>Número de lote (Zxxx)</p>  <p>Número de referencia</p>  <p>Contiene <n> test</p>  <p>Fabricante</p>  <p>No usar si el envase está dañado</p>
---	---