

INFLU-A+B-RESPI-DIPSTICK PLUS

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test immunocromatografico rapido per la determinazione dei virus dell'Influenza Respiratoria di Tipo A e di Tipo B in secrezioni nasofaringee (tamponi, lavaggi o aspirati), comprensivo di controlli

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

L'Influenza è un'infezione virale altamente contagiosa del tratto respiratorio superiore caratterizzata dalla variabilità dell'antigene, dalla stagionalità e dall'impatto sulla popolazione.

Dei due principali tipi di virus influenzali (A e B), i sottotipi dell'Influenza A si differenziano per la variabilità antigenica delle glicoproteine di superficie (emoagglutinina, H e neuraminidasi, N). Il virus dell'Influenza A è il prevalente ed è associato con le epidemie più gravi. I sottotipi dell'Influenza A sono ulteriormente classificati in base ai diversi ceppi. I sottotipi di Influenza A attualmente diffusi a livello mondiale includono i virus H1N1, H1N2, H3N2.

L'Influenza può provocare gravi complicazioni come bronchiti e polmoniti, particolarmente nei bambini, negli anziani o nei soggetti con malattie respiratorie croniche. Nella maggioranza dei casi si tratta di un'infezione non grave trasmessa attraverso le secrezioni respiratorie come starnuto e tosse. Esistono molte altre infezioni virali che possono mimare l'Influenza, rendendo i test di laboratorio necessari per distinguere da altre infezioni respiratorie acute.

Nuovi farmaci antivirali efficaci sono disponibili dal 1990 ma questi trattamenti sono efficaci solo se somministrati precocemente (prima di 48 ore della manifestazione dei sintomi).

L'isolamento del virus è ancora considerato il metodo standard per la diagnosi dell'Influenza, con una sensibilità prossima al 100% dopo 3 giorni. La salute dei pazienti e i costi potrebbero beneficiare dell'uso di metodi di determinazione dell'antigene rapidi, specifici e sensibili, così da consentire l'utilizzo dei nuovi trattamenti antivirali.

Influ-A+B-Respi-Dipstick è un test qualitativo immunocromatografico "lateral flow" per la determinazione degli antigeni dell'Influenza sia di Tipo A che di Tipo B in secrezioni nasofaringee.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Influ-A+B-Respi-Dipstick è un test immunocromatografico qualitativo per la determinazione di *Influenza Tipo A e Tipo B* in secrezioni nasofaringee. La membrana è pre-rivestita con anticorpi monoclonali contro *Influenza Tipo A e Tipo B* antigeni nell'area test. Durante il test, il campione reagisce con le particelle coniugate con anti-*Influenza* anticorpi pre-essiccate sulla striscia reattiva. La miscela migra sulla membrana per azione capillare. In caso di risultato positivo gli anticorpi specifici presenti sulla membrana reagiscono con il coniugato e formano una (A/B) o due (A o B) bande colorate. La presenza della banda verde serve per verificare che è stato aggiunto sufficiente volume, il flusso era appropriato e come controllo interno per i reagenti.

III. REAGENTI E MATERIALI

Ogni kit contiene:

1. **Influ-A+B-Respi-Dipstick** (25 test contenuti in un flacone con essiccante)
2. **Tampone di diluizione** (12,5 mL): soluzione salina a pH 7.5 contenente NaN₃ (>0.1%), un detergente e proteine.
3. **Controllo positivo** (1 x 0.5 mL): N°1 vial con gocciolatore contenente componenti non-infettivi e NaN₃ come conservante.
4. **Controllo negativo**: usare il tampone di diluizione.
5. **Istruzioni per l'uso** (1).

Materiali necessari (non forniti)

Provette/tubo per il test, Dispositivi per la raccolta dei campioni; Guanti monouso; Pipette gocciolatrici; Cronometro.

IV. PRECAUZIONI

- Tutte le operazioni indicate devono essere eseguite rispettando le regole di laboratorio.
- Per uso diagnostico *in vitro* e per solo uso professionale.
- Evitare di toccare la striscia di nitrocellulosa con le dita.
- Indossare i guanti durante la manipolazione del campione.
- Eliminare i guanti, i tamponi, le provette e le strips utilizzate rispettando le regole di laboratorio.
- Non utilizzare reagenti provenienti da altri kit.
- Il flacone contenente i dipstick deve essere chiuso immediatamente dopo aver prelevato il quantitativo di strisce necessario.
- Scartare il diluente se è microbiologicamente contaminato.
- La qualità dei reagenti non può essere garantita dopo la data di scadenza o se conservati in condizioni non adeguate.
- Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non può basarsi sul risultato di un singolo test, ma deve essere confermata da ulteriori analisi.
- I componenti di questo I.v.D. sono sempre stati testati tra loro senza verificarne la compatibilità con componenti prodotti da altri fabbricanti. Pur non escludendo la possibilità che i componenti in questione possano essere usati con componenti di medesima formulazione ma prodotti da altre Aziende, non si ha un'evidenza sperimentale di tale compatibilità.
- Il dispositivo deve essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato ad effettuare test clinici.

V. STOCCAGGIO E STABILITÀ

Conservare il dispositivo sigillato sia refrigerato che a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il dispositivo deve restare sigillato fino al momento dell'uso. Non congelare.

VI. CAMPIONI E PREPARAZIONE

I campioni da testare dovrebbero essere prelevati e manipolati secondo metodi standardizzati. L'uso di terreni di trasporto non è validato con questo kit.

METODO CON TAMPONE NASOFARINGEO:

- Seguire la curva della rinofaringe inserendo il tampone dalla narice alla rinofaringe posteriore.
- Ruotare il tampone un paio di volte per recuperare le cellule infette.
- Per un campione ottimale, ripetere la procedura anche nell'altra narice.

METODO DI ASPIRAZIONE NASOFARINGEA (aspiratore, aspirazione sterile con catetere):

- Instillare diverse gocce di soluzione fisiologica in ciascuna narice.
- Posizionare il catetere dalla narice alla rinofaringe posteriore. Aspirare delicatamente. Usando un movimento rotatorio, ritirare lentamente il catetere.
- Per un campione ottimale, ripetere la procedura anche nell'altra narice.

Inviare il campione immediatamente al laboratorio (col passare del tempo si ha una diminuzione della sensibilità analitica). Refrigerare i campioni a 2-4°C durante il trasporto e lo stoccaggio.

VII. PROCEDURA

Lasciare che i campioni e i tamponi raggiungano la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima del test. Non aprire la confezione fino al momento di eseguire i test.



Esecuzione del test con i campioni di lavaggio o di aspirato nasofaringeo raccolti:

Utilizzare una pipetta e un tubo da saggio per ogni campione. Aggiungere il lavaggio o il campione aspirato nasofaringeo (6 gocce o 300µL) in una provetta per il test. Aggiungere il Diluente (3 gocce o 150µL) e mescolare. Prelevare parte della miscela ottenuta e dispensarne 150 µL in una nuova provetta o tubo da saggio; immergere il dispositivo per la determinazione dell'Influenza A+B verticalmente in questa provetta avendo cura di non oltrepassare il limite di immersione indicato dalle frecce. Avviare il timer. Leggere il risultato dopo 10 minuti.

Esecuzione del test con i campioni di tampone nasofaringeo:

Utilizzare un tubo nuovo per ogni campione (tampone). Aggiungere il diluente (10 gocce o 500µL) nella provetta per il test, inserire il tampone nasofaringeo, mescolare ed estrarre il più possibile il liquido dal tampone. Prelevare parte della miscela ottenuta e dispensarne 150 µL in una nuova provetta o tubo da saggio; immergere il dispositivo per la determinazione dell'Influenza A+B verticalmente in questa provetta avendo cura di non oltrepassare il limite di immersione indicato dalle frecce. Avviare il timer. Leggere il risultato dopo 10 minuti.

PROCEDIMENTO PER CONTROLLI

Portare i reattivi a temperatura ambiente. Prelevare una strip dal flacone.

Dispensare 2-3 gocce (100µL) di **Controllo Positivo/Negativo** in un tubo test; immergere la strip e leggere i risultati dopo 10 minuti

VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

NEGATIVO: quando appare una sola banda verde nella finestra centrale.

POSITIVO: quando appaiono due o tre bande nella finestra centrale, una verde, una rossa e/o una blu.

NON VALIDO: quando non appare alcuna banda di controllo. Il test deve essere ripetuto.

IX. CONTROLLO QUALITA' INTERNO

Viene inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. Una linea verde compare nella regione controllo C come conferma che il volume del campione è sufficiente e la tecnica procedurale corretta.

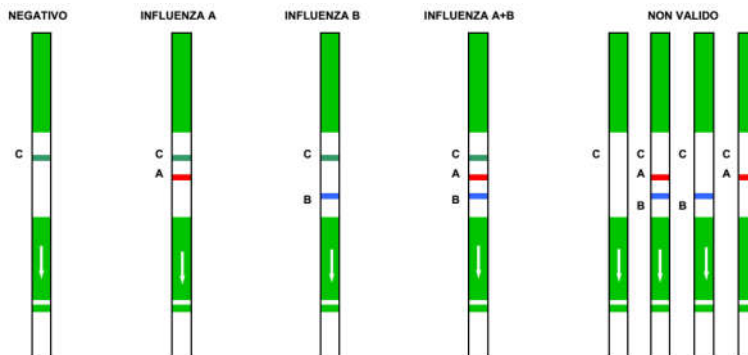
X. CARATTERISTICHE DEL TEST

A. Sensibilità - Specificità - Correlazione

Sono stati utilizzati differenti ceppi virali:

Influenza A/New Caledonia/20/99 (H1N1) strain (15 µg/mL hemagglutinin)
 Influenza A/ (H2N2) strain (15 µg/mL hemagglutinin)
 Influenza A/Fujian/411/2002 (H3N2) strain (15 µg/mL hemagglutinin)
 Influenza B/Shanghai/361/2002 strain (15 µg/mL hemagglutinin)

Influenza A/ (H7N7) strain (15 µg/mL hemagglutinin)
 Influenza A/ (H9N2) strain (15 µg/mL hemagglutinin)



Il limite di rilevazione risulta: **4.7 ng/mL per l'Influenza A e 18.75 ng/mL per l'Influenza B.**

La determinazione dell'Influenza di tipo A e/o di tipo B, su 115 tamponi campione di NPS, confrontati con un altri test rapidi disponibili in commercio (Quidel e Binax Now Influenza A&B) mostra 99% di Sensibilità e 99 % di Specificità.

Una valutazione comparativa fatta con la tecnica RT-PCR per la valutazione della sensibilità nella determinazione della **novel (suina) H1N1** ha dato il seguente risultato: Sensibilità (**novel H1N1**) 67%; Sensibilità (**seasonal/stagionale flu**) 84%.

B. Riproducibilità: Per controllare l'accuratezza un campione positivo all'Influenza A, un campione positivo all'Influenza B e una soluzione di tampone di diluizione (usato come controllo negativo) sono stati testati 10 volte su dipstick dello stesso lotto di produzione in identiche condizioni sperimentali. Tutti i risultati ottenuti confermano l'atteso.

Per controllare l'accuratezza tra i lotti, alcuni campioni (positivi per l'Influenza A, positivi per l'Influenza B e tampone di diluizione) sono stati testati utilizzando tre diversi lotti di produzione. Tutti i risultati ottenuti sono stati conformi all'atteso.

C. Specificità-Interferenze: E' stata verificata la cross-reattività su campioni positivi dei seguenti patogeni e si sono ottenuti risultati negativi: Adenovirus, HSV, Parainfluenza, Enterovirus, Rhinovirus, Nocardia asteroides, Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Streptococcus pyogenes, Aspergillus niger, Legionella pneumophila, Candida albicans, Haemophilus influenzae.

XI. LIMITI DEL TEST

- Il test deve essere fatto entro due ore dall'estrazione della strip dal contenitore.
- Campioni contenenti sangue o eritrociti non devono essere utilizzati poichè possono dare luogo a risultati falsi positivi.
- Un risultato positivo non esclude la possibilità che altri patogeni possano essere presenti.
- I risultati ottenuti con il kit devono essere comparati con tutte le altre informazioni cliniche e di laboratorio disponibili.
- Il kit è un test di screening per la fase acuta dell'infezione. I campioni NPS raccolti dopo questa fase possono contenere un titolo antigenico inferiore alla sensibilità del test. Se un campione fornisce un risultato negativo nonostante la presenza di sintomi, allora deve essere effettuata una coltura per controllare il campione stesso.

XII. BIBLIOGRAFIA

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

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura	LOT	Codice del lotto (EXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)	REF	Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

CONFEZIONE (25 test)

Influ-A+B-Respi-dipstick
 Flacone con tampone di diluizione
 Controllo positivo
 Istruzioni per l'uso

Cod. VC1012P

25 strip
 1 x 12,5 mL
 1 x 0.5 mL
 1 pezzo

Codice Ramo CND W01050990

