

# Prueba rápida Influenza A+B (H1N1/H3N2)

(Exudado nasofaríngeo/ Exudado faríngeo/Aspirado nasal)

Registro sanitario: 0491R2018 SSA

IAB 1222/02

REF DMIAB01

## Uso deseado

La prueba rápida para la detección de Influenza A+B (H1N1/H3N2) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de influenza A y B en muestras nasofaríngeas, hisopado de garganta o muestras de aspirado nasal. Su objetivo es ayudar en el diagnóstico diferencial en prueba rápida de infecciones virales por Influenza A y B.

## Resumen

La influenza (comúnmente conocida como "gripe") es una infección viral altamente contagiosa de las vías respiratorias. Es una enfermedad transmitida fácilmente a través de tos y estornudos los cuales contienen partículas virales [1]. Los brotes de gripe ocurren cada año durante los meses de otoño e invierno. Los virus tipo A son más frecuentes que los virus de tipo B y están asociados con las epidemias de gripe más graves, mientras que las infecciones de tipo B suelen ser más leves. Entre los subtipos actuales de virus de influenza A que causan más problemas en la población son A (H1N1) y A (H3N2), siendo el primero la causa del problema nacional en la primavera de 2009. La prueba estándar para el diagnóstico de laboratorio es el cultivo de células durante 14 días en una variedad de líneas celulares que permiten el crecimiento del virus [2]. El cultivo de células ha limitado su utilidad clínica, ya que la obtención de los resultados es tardía y la intervención clínica se ve afectada. La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) es un método nuevo, generalmente más sensible que el cultivo con mejores tasas de detección de un 2-23% [3]. Sin embargo, la RT-PCR es costosa, compleja y debe realizarse en laboratorios especializados. La prueba rápida para Influenza A+B detecta cualitativamente la presencia de antígenos de influenza A y/o B desde muestras de exudado nasofaríngeo, exudado faríngeo o aspirado nasal, proporcionando resultados en 15 minutos. La prueba utiliza anticuerpos específicos contra influenza A y B, para detectar selectivamente los antígenos de la influenza A y la influenza B.

## Principio

La prueba rápida para la detección de Influenza A + B (H1N1/H3N2) es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección de las nucleoproteínas de la gripe A y B en muestras de exudado nasofaríngeo, exudado faríngeo o aspirado nasal. En esta prueba se impregna por separado un anticuerpo específico anti-influenza A en la línea de prueba A y otro anticuerpo específico anti-influenza B en la línea de prueba B. Durante el ensayo, la muestra reacciona con el anticuerpo anti-influenza A o anti-influenza B que se encuentran recubriendo las partículas de oro. La mezcla migra por capilaridad a través de la tira reactiva para reaccionar con el anticuerpo del tipo A y/o del tipo B de la membrana y genera una o dos líneas de color en las zonas de prueba. La presencia una línea de color en una o en ambas zonas de prueba indica un resultado positivo.

## Reactivos

La prueba contiene partículas de oro recubiertas con anticuerpos anti-influenza A y B, así como anticuerpos anti-influenza A y B impresos en la membrana.

## Precauciones

- Para uso diagnóstico profesional *in vitro*.
- No utilice después de la fecha de caducidad.
- No mezcle componentes de diferentes lotes.
- Siempre analice la muestra inmediatamente después de ser tomada.
- El almacenamiento, transporte o colecta de muestras realizados de forma inadecuada, puede generar resultados falsos negativos.
- No coma, beba o fume en el área donde se manejan las muestras o las pruebas.
- No utilice la prueba si el paquete está dañado.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra riesgos microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se analicen.
- Asegúrese de utilizar una cantidad adecuada de muestra para la prueba. Demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las normativas locales para el manejo de residuos peligrosos biológicos-infecciosos.
- La temperatura y humedad pueden afectar negativamente los resultados.

## Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No congele el contenido de la prueba.

## Almacenamiento de la muestra

- Una vez colectada la muestra, no devuelva el hisopo a su contenedor original.
- La prueba debe realizarse inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- Si por alguna razón no puede analizar la muestra inmediatamente, almacene el hisopo en un tubo colector de muestra, sellado adecuadamente. La muestra puede permanecer así hasta por 1 hora previo al análisis. Si se excede este tiempo la muestra dejará de ser viable y se deberá realizar una nueva toma de muestra.

## Materiales

### Materiales proporcionados:

- Prueba rápida en cartucho de Influenza A+B
- Buffer
- Hisopo estéril

- Tubo colector
- Tapa cuentagotas
- Manual de instrucciones

### Materiales requeridos, pero no proporcionados:

- Temporizador
- Gradilla

## Recolección de muestras

### Muestra de exudado faríngeo:

- Inserte un hisopo esterilizado en la faringe, recolectar muestra limpiando sobre toda la región del muro posterior de la faringe y del paladar varias veces, evitando que el hisopo toque la saliva.

### Muestra de aspiración nasal:

- Conecte el catéter de aspiración a una trampa de aspiración que está conectada a un dispositivo de aspiración. Posteriormente inserte el catéter a una cavidad nasal, inicie el dispositivo de aspiración y luego recoja la muestra del aspirado nasal. Sumerja el hisopo esterilizado dentro de la muestra nasal recolectada, procurando que el espécimen se adhiera a la esponja del hisopo lo máximo posible.

### Muestra de exudado nasofaríngeo:

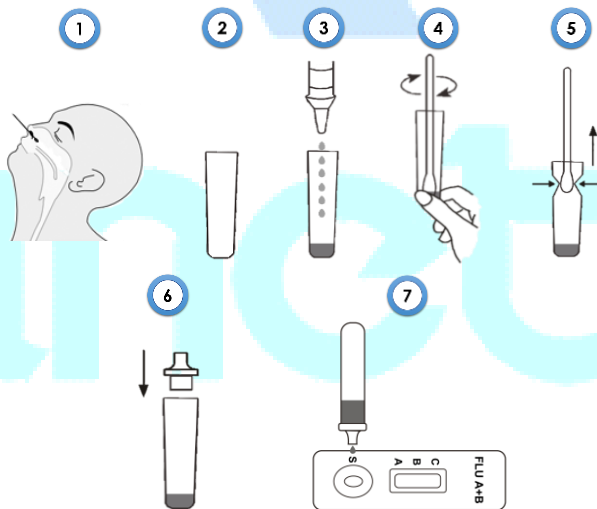
- Inserte el hisopo nasal en el orificio nasal con la vía más despejada.
  - a. Rote el hisopo de forma gentil e introdúzcalo hasta que produzca una resistencia al avance, esto sucede a la altura de la cavidad faríngea superior (aproximadamente 2.5 cm después de la entrada del orificio nasal).
  - b. Rote el hisopo 5 veces o más contra la pared nasal.
  - c. Retire lentamente el hisopo del orificio nasal.
  - d. Usando el mismo hisopo, repita el procedimiento en el orificio nasal restante.
  - e. Introduzca el hisopo en tubo colector como se detalla más adelante.

Para un mejor desempeño, analice las muestras inmediatamente después de su recolección. La manipulación, almacenamiento o transporte incorrecto puede generar desviaciones en los resultados.

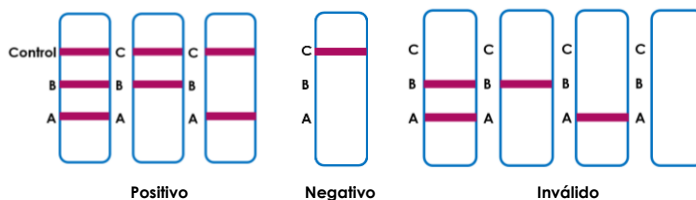
## Instrucciones de uso para muestras

Permitir que la prueba, muestra y buffer lleguen a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de su uso.

1. Recolecte la muestra de acuerdo a las especificaciones descritas anteriormente.
2. Coloque el tubo colector verticalmente sobre una gradilla.
3. Agregue 10 gotas del buffer al tubo colector.
4. Coloque el hisopo con la muestra en el tubo colector y gírelo vigorosamente.
5. Retire el hisopo apretando el tubo colector contra este y deseche en contenedor de RPBI.
6. Coloque la punta del gotero en la parte superior del tubo colector.
7. Agregue 3 gotas en la zona de la muestra (S) del cartucho.
8. Interprete los resultados a los 15 minutos.



## Interpretación de los resultados



(Refiera a la imagen anterior)

**INFLUENZA A POSITIVO:** Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color en la región de Influenza A (A). Un resultado positivo en la región A de influenza indica que se detectó el antígeno de la influenza tipo A en la muestra.

**INFLUENZA B POSITIVO:** Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color en la región de Influenza B (B). Un resultado positivo en la región B de influenza indica que se detectó el antígeno de la influenza tipo B en la muestra.

**INFLUENZA A E INFLUENZA B POSITIVO:** Tres líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región de control (C), otra en la región de Influenza A (A) y una última en la región de Influenza B (B). Un resultado positivo en la región de influenza A y en la región de influenza B indica que se detectó el antígeno de influenza A y antígeno de influenza B en la muestra.

**NOTA:** La intensidad del color en las regiones de la línea de prueba (A o B) variará en función de la cantidad de antígeno de la gripe A o B presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en las regiones de prueba (A o B) debe considerarse positivo.

**NEGATIVO:** Una línea de color aparece en la región de control (C). Ninguna línea aparece en la región de las líneas de prueba (A o B).

**INVÁLIDO:** La línea de control no aparece. Cantidad de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo cartucho de prueba. Si el problema persiste suspenda el uso de la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

## Control de calidad

Un control interno está incluido en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es el procedimiento de control interno. Confirme que la cantidad de muestra es suficiente y que el procedimiento es correcto. Los controles no se suministran con este kit, sin embargo, se recomienda que un control positivo y un control negativo sean utilizados para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar su rendimiento.

## Limitaciones

- Los resultados deben ser interpretados por un médico o personal calificado.
- La prueba rápida de influenza A+B (H1N1/H3N2) es sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- La prueba se debe utilizar para la detección del virus de la influenza A y/o B en muestras de exudado nasofaríngeo, exudado faríngeo o aspirado nasal. La concentración de los virus A y/o B no pueden determinarse mediante esta prueba cualitativa.
- La prueba rápida de influenza A+B (H1N1/H3N2) sólo indicará la presencia del virus de influenza A y/o B en la muestra, ya sean viables o no viables.
- Como con todas las pruebas de laboratorio, los resultados deben considerarse con toda información clínica disponible para el médico o personal calificado.
- Un resultado negativo se puede obtener si la concentración del virus influenza A y/o B presente en la muestra no es adecuada o está por debajo del nivel de detección de la prueba.
- Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos como las pruebas de diagnóstico molecular y los resultados deben ser interpretados por un médico.
- El uso de aerosoles nasales a concentraciones elevadas puede interferir con los resultados.
- Un resultado positivo a influenza A y/o B no se opone a la posibilidad de una infección bacteriana subyacente por otro patógeno, lo cual debe ser considerado.
- Es posible que el agente detectado no sea la causa definitiva de la enfermedad.

## Valores esperados

La prueba rápida de Influenza A + B (exudado nasofaríngeo/exudado faríngeo/aspirado nasal) ha sido comparada con una prueba de RT-PCR. La correlación entre estos dos sistemas es de más del 97%.

## Características de presentación

La prueba rápida de Influenza A + B (H1N1/H3N2) en muestras de exudado nasofaríngeo/exudado faríngeo/aspirado nasal, se ha evaluado con muestras obtenidas de diferentes pacientes. Se comparó los resultados obtenidos en la prueba contra lo de un RT-PCR como método de referencia.

### Exudado nasofaríngeo

Prueba rápida de influenza A + B	Positivo	Tipo A			Tipo B		
		RT-PCR		Total	RT-PCR		Total
		Positivo	Negativo		Positivo	Negativo	
Negativo	1	180	181	2	200	202	
Resultados totales		101	182	283	87	202	289
Sensibilidad Relativa		99.0 %		97.7 %			
Especificidad Relativa		98.9 %		99.0 %			
Precisión		98.9 %		98.6 %			

### Exudado faríngeo

Prueba rápida de influenza A + B	Positivo	Tipo A			Tipo B		
		RT-PCR		Total	RT-PCR		Total
		Positivo	Negativo		Positivo	Negativo	
Negativo	3	150	153	4	162	166	
Resultados totales		61	151	212	69	163	232
Sensibilidad Relativa		95.1 %		94.2 %			
Especificidad Relativa		99.3 %		99.4 %			
Precisión		98.1 %		97.8 %			

### Exudado nasal

Prueba rápida de influenza A + B	Positivo	Tipo A			Tipo B		
		RT-PCR		Total	RT-PCR		Total
		Positivo	Negativo		Positivo	Negativo	
Negativo	0	241	241	2	158	160	
Resultados totales		46	243	289	94	159	253
Sensibilidad Relativa		100 %			97.9 %		
Especificidad Relativa		99.2 %			99.4 %		
Precisión		99.3 %			98.8 %		

## Reactividad con cepa de influenza humana

La prueba rápida de influenza A + B (H1N1/H3N2) fue probado con las siguientes cepas de la Influenza humana, en todas se percibieron las líneas de prueba correspondientes.

Influenza tipo A	Influenza tipo B
A/NWS/3310 (H1N1)	A/Duck/Hubei/216/1983(H7N8)
A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	A/Duck/Hubei/137/1982(H10N4)
A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	A/Anhui/1/2013(H7N9)
A/WS/33 (H1N1)	B/R5
A/Nueva Jersey/8/76 (HswN1)	B/Russia/69
A/Mal/302/54(H1N1)	B/Lee/40
A/chicken/Yuyao/2/2006(H5N1)	B/Hong Kong/5/72
A/swine/Hubei/251/2001(H9N2)	

### Prueba especificidad con diversas cepas virales

Descripción	Nivel de prueba	Descripción	Nivel de prueba
Adenovirus C Humano	5.62 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Adenovirus B Humano	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Adenovirus tipo 10	3.16 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Adenovirus tipo 18	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Coronavirus Humano OC43	2.45 x 10 <sup>6</sup> LD 50/mL	Coxsackievirus A9	2.65 x 10 <sup>4</sup> LD 50/mL
Coxsackievirus B5	1.58 x 10 <sup>7</sup> TCID 50/mL	Herpes virus Humano 5	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Ecovirus 2	3.16 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Ecovirus 3	1x 10 <sup>4</sup> TCID 50/mL
Ecovirus 6	3.16 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Virus simple Herpes 1	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Herpes virus Humano 2	2.81 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Rinovirus humano 2	2.81 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Rinovirus humano 14	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Rinovirus humano 18	8.89 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Sarampión	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Paperas	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Sendai Virus	8.89 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Virus Parainfluenza 2	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Virus Parainfluenza 3	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Virus Sincitial Respiratorio	8.89 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Virus Sincitial Humano Respiratorio	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL	Rubeola	2.81 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL
Varicela Zoster	1.58 x 10 <sup>6</sup> TCID 50/mL		

**TCID50 (Dosis infecciosa de cultivo de tejidos):** dilución del virus que se puede esperar que infecte el 50% de los recipientes de cultivo inoculados.

**LD50 (Dosis letal):** dilución del virus que se puede esperar que sea mortal para el 50% de los ratones lactantes inoculados.

### Precisión

#### Intra-ensayo y Inter-ensayo

La repetibilidad y reproducibilidad se determinó usando cinco muestras de un control estándar de influenza. Tres lotes diferentes de la prueba rápida de Influenza A + B (H1N1/H3N2) fueron probados con las diferentes muestras: negativa, Influenza A débil, Influenza B débil, Influenza A fuerte e Influenza B fuerte. Se realizaron diez repeticiones de cada muestra con la prueba, por tres días diferentes. Las muestras fueron correctamente identificadas >99% del tiempo.

### Reactividad cruzada

Se analizaron los siguientes organismos en una concentración de 1 x 10<sup>8</sup> org/mL, los resultados fueron negativos en todos los casos al usar la prueba rápida de Influenza A + B (exudado nasofaríngeo/exudado faríngeo/aspirado nasal).

<i>Arcanobacterium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus subesp. aureus</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Haemophilus</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. dysgalactiae</i>
<i>Moxarella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus oralis formerly</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus sp group F, type 2</i>

## Referencias

- Williams, KM, Jackson MA, Hamilton M. (2002) Pruebas de diagnóstico rápido para infecciones del tracto respiratorio superior en niños; Impacto en la toma de decisiones y el costo del médico. *infect. Medicina*, 19(3); 109-111.
- Betts, RF 1995. Virus de la gripe, pág. 1546-1567. En G. L. Mandell, R. G. Douglas, Jr. y J.E. Bennett (ed.), Principio y práctica de las enfermedades infecciosas, 4.ª ed. Churchill Livingstone, Inc., Nueva York, N.Y.
- Recomendaciones de la OMS sobre el uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de influenza, Organización Mundial de la Salud, julio de 2005.

## Índice de símbolos

	Consultar manual de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 2 - 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado

	Caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	No reutilizar