



CERTEST INFLUENZA A+B BLISTER TEST
One step Influenza A+B Blister Test for the detection of Influenza type A and type B from nasal swabs, nasal wash or nasal aspirate specimens

INTENDED USE

The CerTest Influenza A+B Blister Test is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of influenza type A and type B antigens. It can be used directly with nasal swabs or nasal wash or nasal aspirate specimens.

INTRODUCTION

Influenza is caused by a virus that attacks mainly the upper respiratory tract – the nose, throat and bronchi and rarely also the lungs. The infection usually lasts for about a week. It is characterized by sudden onset of high fever, myalgia, headache and severe malaise, non-productive cough, sore throat, and rhinitis. Most people recover within one to two weeks without requiring any medical treatment. In the very young, the elderly and people suffering from medical conditions such as lung diseases, diabetes, cancer, kidney or heart problems, Influenza poses a serious risk. In these people, the infection may lead to severe complications of underlying diseases, pneumonia and death.

The currently circulating influenza viruses that cause human disease are divided into two groups: A and B. Influenza A has 2 subtypes which are important for humans: A (H3N2) and A (H1N1), of which the former is currently associated with most deaths. Influenza viruses are defined by 2 different protein components, known as antigens, on the surface of the virus. They are spike-like features called haemagglutinin (H) and neuraminidase (N) components.

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest Influenza A+B Blister Test is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of Influenza type A and type B antigens. The membrane is pre-coated with mouse monoclonal antibodies, on the test band region, to recognize these antigens.

During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-type A mouse monoclonal antibodies-red microspheres and anti-type B mouse monoclonal antibodies-blue microspheres) which was pre-dried on the test. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured particles. Different coloured lines will be visible, depending upon the type of antigens contents of the sample. These lines are used to interpret the result.

The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a GREEN coloured band always appears. The presence of this GREEN band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

- CerTest Influenza A+B Blister Test is intended for professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- Do not use test devices if the aluminium pouch has been damaged during storage.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new swab must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Nasal swab specimen:

Collect specimen with a sterile swab from one nostril. Insert the swab approximately 3 cm into the nostril rotating against the nasal wall. Process the swab as soon as possible after collecting the specimen.

Nasal Wash or Aspirate specimen:

For Adult: Place the irrigator up to the nose. Let the sterile saline water run into the nose (2.5 mL). It will run out the opposite side. Tilt and twist the irrigator side to side and up and down directing the water flow into all portions of the nasal cavity. Collect the wash in a clean specimen container, tilt the head forward and allow the water with mucus to run out of the nostril into the specimen container. Repeat the mucus collection for the other nostril and collect it into the same container.

For children: use an aspiration bulb or bulb syringe to instill the saline water into one nostril leaning the children head. Aspirate the mix of mucus-saline water into the bulb and transfer it into a clean container. Repeat for the other nostril and transfer the fluid into the same specimen container.

Samples should be processed as soon as possible after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 8 hours prior to testing.

MATERIALS PROVIDED

- Blister tests
- Reagent A (saline solution) and Reagent B (sample diluent)
- Testing tubes
- Sterile swabs
- Disposable pipettes
- Positive Control swab
- Instructions for use

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Disposable gloves
- Timer

TEST PROCEDURE

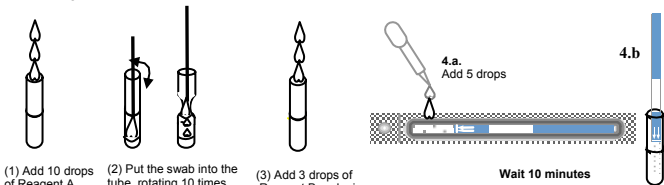
Allow the tests, swabs and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until ready to perform the assay. Only bring to room temperature the number of tests required to assay before opening it.

- Procedure A using nasal swab samples:

1. Add 10 drops (1) Reagent A and immediately put the swab into the tube.
2. Mix the solution by rotating the swab forcefully against the side of the tube at least 10 times. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution (2). Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
3. Add 3 drops (3) Reagent B. Mix the solution with the pipette at least 10 times.
4. Cut the blister to obtain a test single pack, hold the non sealed side and open it peeling off the upper foil.

4.a. Don't remove the test from the blister cavity and use it as soon as possible. Place the test on a flat surface. Use a separate pipette and device for each sample or control. Dispense exactly 5 drops or 150µL on the white end of the test (4a). Read the result at 10 minutes.

4.b. Place the test vertically with the white end submerged into the sample taking care of not surpassing the limit of immersion indicated with the arrows (4b). Read the result at 10 minutes.

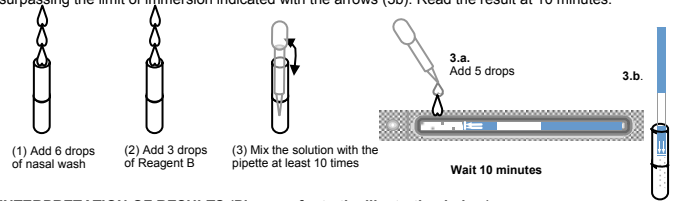


- Procedure B using nasal wash or aspirate samples:

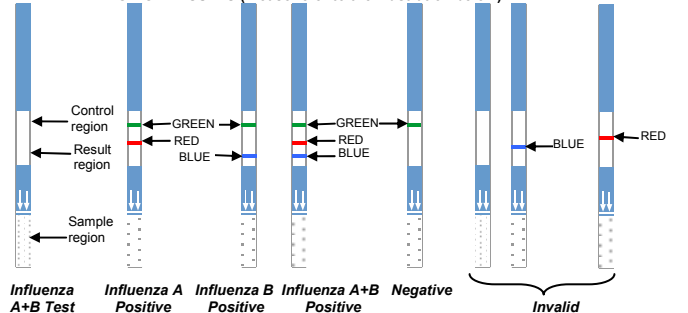
1. Add 6 drops (1) of the nasal wash or aspirate samples with a pipette and 3 drops (2) of Reagent B in a testing tube.
2. Mix the solution with the pipette at least 10 times. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution (3).
3. Cut the blister to obtain a test single pack, hold the non sealed side and open it peeling off the upper foil.

3.a. Don't remove the test from the blister cavity and use it as soon as possible. Place the test on a flat surface. Use a separate pipette and device for each sample or control. Dispense exactly 5 drops or 150µL on the white end of the test (3a). Read the result at 10 minutes.

3.b. Place the test vertically with the white end submerged into the sample taking care of not surpassing the limit of immersion indicated with the arrows (3b). Read the result at 10 minutes.



INTERPRETATION OF RESULTS (Please refer to the illustration below)



NEGATIVE: Only one GREEN band (control line) appears in the white central zone of the reaction test (control region).

Influenza A POSITIVE: In addition to the GREEN control band, a distinguishable RED band (type A test line) also appears in the white central zone of the reaction test (tests lines).

Influenza B POSITIVE: In addition to the GREEN control band, a BLUE band (type B test line) also appears in the result region (tests lines).

Influenza A+B POSITIVE: All the lines above described (a GREEN control band in the control region, a RED band and a BLUE band in the result region) could appear at the same time during the test performance due to a simultaneous infection of Influenza A+B.

INVALID: A total absence of the control coloured band (GREEN) regardless the appearance or not of the tests lines (RED/BLUE). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red or blue coloured band in the result line region will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal and external procedural controls are included in the kit:

- A green line appearing in the control region is the internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.
- Each kit also contains a positive control swab. Use this control to test that the extraction reagents and the test are working properly.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed pack.
2. This test provides a presumptive diagnosis for Influenza A+B infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
3. The CerTest Influenza A+B Test should be used only with nasal swabs, nasal wash and nasal aspirate samples. The use of swab specimens taken from other sites or the use of other samples such as saliva, sputum or urine has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper nasal specimens must be obtained.
4. A negative result may be obtained if the specimen is inadequate or antigen concentration is below the sensitivity of the test. Therefore, it is recommended that all negative CerTest Influenza A+B Test results undergo confirmatory testing using other method and/or by cell culture.

PERFORMANCE

Sensitivity

Different virus extract dilutions were tested directly in the sample diluent or spiked in a negative nasal specimen in accordance with the kit instructions.

The detection of Influenza type A and/or type B with CerTest Influenza A+B Test showed >99% of sensitivity compared with another commercial rapid test.

Specificity

The use of mouse monoclonal antibodies in the elaboration of CerTest Influenza A+B Test assures high degree of specificity for the detection of Influenza type A and type B antigens.

The detection of Influenza type A and type B with CerTest Influenza A+B Test showed >99% of specificity compared with another commercial rapid test.

REFERENCES

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. Imen 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.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		For IVD performance evaluation only

CerTest María de Luna 11, nave 16
 BIOTEC S.L. E-50018 Zaragoza (SPAIN)
 www.cerTest.es



DOMAINE D'UTILISATION

Le test CerTest Influenza A+B Blister est un test immunocromatographique en une seule étape pour la détection qualitative d'antigènes du virus Influenza de type A et B. Il permet la détection de la Grippe de type A et/ou de type B dans des échantillons liquides provenant soit de sécrétions nasopharyngées soit de lavages ou d'aspirations nasopharyngées.

INTRODUCTION

La grippe (ou Influenza) est une infection virale des voies respiratoires supérieures fortement contagieuse qui se caractérise par sa grande variabilité antigénique, sa saisonnalité et son impact général sur la population.

Les symptômes de la grippe sont : fièvre élevée, douleurs musculaires et articulaires, maux de tête, malaise, toux, maux de gorge et écoulements nasaux. La grippe peut engendrer des complications sévères comme la bronchite ou la pneumonie, particulièrement chez les enfants, les personnes âgées ou les personnes ayant une maladie respiratoire chronique. Il s'agit le plus souvent d'une infection virale simple transmise par des sécrétions respiratoires véhiculées par les étternuements ou la toux.

Parmi les deux principaux types de virus de la grippe (A et B), le groupe A mute avec une grande facilité, permettant de distinguer des sous-types importants chez les humaines : A (H3N2) et A (H1N1). Le virus de type A est le plus répandu et est associé aux plus sérieuses épidémies.

PRINCIPE DU TEST

Le test CerTest Influenza A+B Blister est un test qualitatif de dosage immunocromatographique pour la détermination des antigènes de type A et B du virus Influenza. La membrane est sensibilisée avec des anticorps monoclonaux de souris, dirigés contre des antigènes viraux.

Pendant le test, le conjugué coloré, préalablement immobilisé sur la membrane du test, réagit avec l'échantillon (anticorps monoclonaux de souris anti-type A : microsphères rouges et anti-type B : microsphères bleues). À mesure que le mélange s'écoule à travers la membrane par capillarité, les particules colorées migrent. Si le résultat est positif, les anticorps présents se fixent aux microsphères colorées présentes sur la membrane. Des lignes de différentes couleurs sont alors permettant d'interpréter le résultat.

La migration se poursuit jusqu'à la zone contrôle où se trouve l'anticorps immobilisé. Une ligne de couleur VERTE doit toujours apparaître (ligne de contrôle). L'apparition de cette ligne verte permet en effet de vérifier : 1) que la quantité d'échantillon ajoutée a été suffisante, 2) que la migration s'est déroulée correctement, et 3) que le contrôle interne pour les réactifs est conforme.

CONDITIONS DE CONSERVATION

Le coffret peut être conservé entre +2 et +30°C. Les composants du coffret sont stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur le conditionnement extérieur. Ne pas ouvrir avant utilisation. Ne pas congeler.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Uniquement pour usage professionnel *in vitro*
- Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption
- Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
- Les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux et doivent être manipulés comme un agent infectieux
- Tous les dispositifs usagés doivent être jetés dans des conteneurs de déchets biologiques

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Écouvillonnage nasal

Insérer un écouvillon stérile dans la narine qui présente la quantité la plus importante de sécrétions (3 cm environ dans la narine). Tourner l'écouvillon à plusieurs reprises contre la paroi nasale et retirer le ensuite en douceur. Prélever des échantillons dans les deux narines et avec le même écouvillon. Les échantillons doivent être testés dès que possible après leur prélèvement.

Lavage nasal ou aspiration nasale

Chez les adultes : penchez la tête en arrière et introduire la solution saline (2.5 ml) dans la narine supérieure. Laissez celle-ci agir afin de laver toute la cavité nasale, puis expulser la. Le liquide doit ressortir naturellement. Recueillir toute l'eau du lavage dans un tube propre. Renouveler l'opération pour l'autre narine en transférant le prélèvement dans le même récipient à échantillon.

Chez les enfants : penchez la tête de l'enfant vers l'arrière puis à l'aide d'une seringue ou d'un compte-gouttes instiller la solution saline dans une narine. Aspirez le prélèvement et transférer celui-ci dans un récipient à échantillon propre et sec. Renouveler l'opération pour l'autre narine en transférant le prélèvement dans le même récipient à échantillon.

Les échantillons doivent être utilisés immédiatement après leur prélèvement. Les échantillons peuvent être conservés dans le réfrigérateur (+2°C/+4°C) pendant 8 heures avant de faire le test.

MATÉRIAUX FOURNIS

- Blister tests
- Réactif A (solution saline) et Réactif B (diluante)
- Tubes à essai
- Écouvillons nasaux stériles
- Pipettes en plastique jetables
- Écouvillon de contrôle positif
- Notice d'utilisation

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES-NON FOURNIS

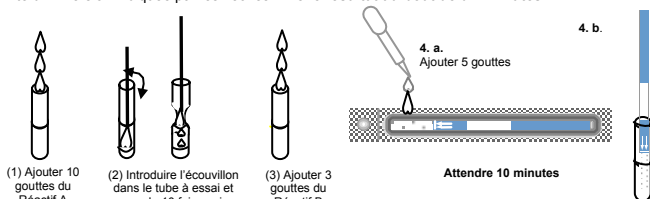
- Des gants jetables
- Un chronomètre

MODE OPERATOIRE

S'assurer que les bandelettes test, les écouvillons et les contrôles nécessaires au test soient à température ambiante (+15°C/+30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir l'emballage avant d'effectuer le test.

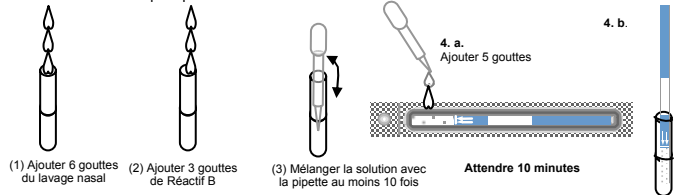
Procédure A. Écouvillonnage nasal.

1. Ajouter 10 gouttes (1) de Réactif A et introduire immédiatement l'écouvillon dans le tube à essai.
2. Agiter l'écouvillon pour que la solution se mélange, au moins 10 fois. Remuer vigoureusement (2). Extraire la quantité maximum de liquide en pressant l'écouvillon contre la paroi du tube. Retirer l'écouvillon et jeter le.
3. Ajouter 3 gouttes du réactif B (3). Mélanger la solution avec la pipette au moins 10 fois.
4. Couper le blister et sortir un des tests (chaque test est scellé individuellement). Prenez l'extrémité non scellé du film supérieur et tirez pour l'ouvrir jusqu'à ce que la membrane soit visible complètement.
 4. a. Ne pas enlever le dispositif de son compartiment et l'utiliser le plus rapidement possible. Placer le test sur une surface horizontale et propre. Utiliser une pipette et un test différent pour chaque échantillon ou contrôle. Prélever du tube à essai, 5 gouttes ou 150µL et déposer les sur la zone blanche située à l'extrémité du test (4a). **Lire le résultat au bout de dix minutes.**
 4. b. Sortir la membrane de son compartiment et immerger la dans le tube à essai en position verticale de façon à ce que la partie blanche entre en contact avec l'échantillon (4b). Ne pas dépasser la limite d'immersion indiquée par les flèches. **Lire le résultat au bout de dix minutes.**

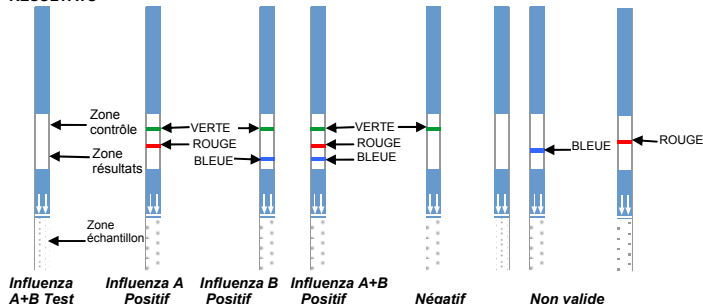


Procédure B. Lavage nasal ou aspiration nasale

1. A l'aide de la pipette, ajouter 6 gouttes du lavage nasal (1) ou aspiration nasale et 3 gouttes du Réactif B (2) dans un tube à essai.
2. Bien mélanger la solution avec la pipette (environ 10 fois). Agiter vigoureusement pour obtenir un résultat optimal (3).
3. Couper le blister et sortir un des tests (chaque test est scellé individuellement). Prenez l'extrémité non scellé du film supérieur et tirez pour l'ouvrir jusqu'à ce que la membrane soit visible complètement.
 3. a. Ne pas enlever le dispositif de son compartiment et l'utiliser le plus rapidement possible. Placer le test sur une surface horizontale et propre. Utiliser une pipette et un test différent pour chaque échantillon ou contrôle. Prélever du tube à essai, 5 gouttes ou 150µL et déposer les sur la zone blanche située à l'extrémité du test (4a). **Lire le résultat au bout de dix minutes.**
 3. b. Sortir la membrane de son compartiment et immerger la dans le tube à essai en position verticale de façon que la partie blanche entre en contact avec l'échantillon (4b). Ne pas dépasser la limite d'immersion indiquée par les flèches. **Lire le résultat au bout de dix minutes.**



RÉSULTATS



NÉGATIF : L'apparition d'une ligne VERTE dans la zone de contrôle « C » et l'absence de lignes dans la zone de résultats « T » indiquent l'absence de virus grippaux de types A et B.

Influenza A POSITIF : l'apparition d'une ligne VERTE dans la zone de contrôle « C » et d'une ligne ROUGE dans la zone de résultats « T » indiquent la présence du virus grippal de type A.

Influenza B POSITIF : l'apparition d'une ligne VERTE dans la zone de contrôle « C » et d'une ligne BLEUE dans la zone de résultats « T » indiquent la présence du virus grippal de type B.

Influenza A+B POSITIFS : l'apparition de toutes lignes décrites ci-dessus indique une infection simultanée aux virus grippaux de types A et B.

NON VALIDE : Le test n'est pas valide si la ligne VERTE de la zone de contrôle « C » n'apparaît pas, et ce même s'il y a présence d'une ligne dans la zone de résultats « T ». Les causes les plus fréquentes d'un résultat invalide sont : soit une quantité insuffisante d'échantillon, soit une procédure d'exécution incorrecte ou soit une détérioration des réactifs. Si cela se produit, il faut revoir la procédure et refaire le test avec un nouveau dispositif. Si le problème persiste, contacter le fournisseur et n'utiliser plus les tests.

OBSERVATIONS

L'intensité de la couleur de la ligne rouge ou bleue dans la zone de résultat du test « T » varie en fonction de la concentration d'antigènes présents dans l'échantillon. Néanmoins, ce test est qualitatif, en conséquence ni la quantité ni le taux d'augmentation d'antigènes peuvent être déterminés avec ce dispositif.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le coffret contient des contrôles de procédure internes et externes: Le contrôle interne est inclus dans la carte test. La ligne verte qui apparaît dans la zone de contrôle (C) constitue le contrôle interne du test, vérifiant si le volume d'échantillon est suffisant et si la procédure de test a bien été exécutée. Chaque coffret contient un écouvillon de contrôle positif. Ce contrôle de qualité externe est à utiliser pour tester que le réactif d'extraction ainsi que le test fonctionnent de façon adéquate.

RESTRICTIONS

1. Ne pas utiliser le test si 2 heures se sont écoulées après l'ouverture du sachet.
2. Ce test offre un diagnostic présomptif pour l'infection de l'Influenza A et/ou B. Néanmoins, l'établissement du diagnostic à l'infection ne doit être confirmé que par un médecin après évaluation de tous les tests cliniques effectués en laboratoire.
3. Le test CerTest Influenza A+B ne doit être utilisé qu'avec des échantillons prélevés par écouvillonnage nasal, lavage nasal ou aspiration nasale. L'utilisation d'échantillons sous une autre forme comme de la salive, des sécrétions ou de l'urine n'a pas été déterminée. La qualité du test dépend de la qualité de l'échantillon.
4. Ce test peut produire un résultat négatif si le taux d'antigènes contenus est inférieur à son seuil de détection. Des résultats négatifs doivent être confirmés par une culture cellulaire.

CARACTÉRISTIQUES DU TEST

La sensibilité et la spécificité du coffret ont été testées sur des prélèvements nasopharyngés pour déterminer la sensibilité et spécificité du test CerTest Influenza A+B Test.

Sensibilité

Après comparaison avec d'autres tests rapides, le test CerTest Influenza A+B a démontré une concordance supérieure à 99%.

Spécificité

L'utilisation d'anticorps monoclonaux de souris dans le test CerTest Influenza A+B assure un haut degré de spécificité pour la détection d'antigènes de virus Influenza de type A et B. Après comparaison avec d'autres tests rapides, le test CerTest Influenza A+B a démontré une spécificité supérieure à 99%.

BIBLIOGRAPHIE

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.

SYMBOLES POUR REACTIFS ET PRODUITS POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO

IVD	Dispositif médical de Diagnostic in vitro	LOT	Numéro de lot
Notice	Consulter la notice d'utilisation	REF	Référence
Dry	Conserver au sec	Σ	Contient suffisamment pour <n> tests
Temp	Limites de température	Factory	Fabricant
Date	Date de péremption	Test strip	Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances