
CERTEST

Influenza A+B+
RSV+Adeno Resp.

ONE STEP *Influenza type A,*
Influenza type B, Respiratory
Syncytial Virus and Adenovirus
Respiratory

COMBO CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



For information purposes only





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect *Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus* en formato cassette

ENGLISH

INTENDED USE

CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* one step combo card test is a coloured chromatographic immunoassay for the simultaneous qualitative detection of *Influenza* type A and type B, *Respiratory Syncytial Virus* and *Adenovirus* antigens from nasopharyngeal swab, nasopharyngeal wash or aspirate specimens.

CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test is a simple and a highly sensitive screening assay to make a presumptive diagnosis of *Influenza* type A and B, *Respiratory Syncytial Virus* and/or *Adenovirus* respiratory infection. The clinical presentation of infections caused by the heterogeneous group of the respiratory viruses can be very similar. Thus, the implementation of this qualitative assay that rapidly identifies the most important viruses involved shows a great interest.

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 3 subtypes which are important for humans: A (H3N2), A (H1N1) and A (H5N1), 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.

Respiratory Syncytial Virus (RSV) is the most common cause of bronchiolitis and pneumonia among infants and children under 1 year of age. Illness begins most frequently with fever, runny nose, cough and sometimes wheezing. Severe lower respiratory tract disease may occur at any age, especially among the elderly or among those with compromised cardiac, pulmonary or immune systems. *RSV* is spread from respiratory secretions through close contact with infected persons or contact with contaminated surfaces or objects.

Adenoviruses most commonly cause respiratory illness; however, depending on the infecting serotype, they may also cause various other illnesses, such as gastroenteritis, conjunctivitis, cystitis and rash illness. Symptoms of respiratory illness caused by *Adenovirus* infection range from the common cold syndrome to pneumonia, croup and bronchitis. Patients with compromised immune systems are especially susceptible to severe complications of *Adenovirus* infection. Adenovirus is transmitted by direct contact, fecal-oral transmission and occasionally waterborne transmission. Some types are capable of establishing persistent asymptomatic infections in tonsils, adenoids and intestines of infected hosts and shedding can occur for months or years.

TEST PRINCIPLE

CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Influenza* type A in the strip A, *Influenza* type B in the strip B, *Respiratory Syncytial Virus* in the strip C and *Adenovirus* in the strip D from nasopharyngeal swab, nasopharyngeal wash or aspirate specimens.

Strip A consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Influenza* type A and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-type A) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

Strip B consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Influenza* type B and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-type B) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

Strip C consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *RSV* and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*RSV*) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

Strip D consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Adenovirus* and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*Adenovirus*) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect *Influenza A*, *Influenza B*, *RSV* and *Adenovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Influenza A*, *Influenza B*, *RSV* y *Adenovirus* en formato cassette

If the sample is *Influenza A* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugates complex (anti-type A monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip A and if the sample is *Influenza B* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugated complex (anti-type B monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip B, which were previously pre-dried on the absorbent pad. If the sample is *RSV* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugated complex (anti-*RSV* monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip C and if the sample is *Adenovirus* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugated complex (anti-*Adenovirus* monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip D, which were previously pre-dried on the absorbent pad. The mixtures then move upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-type A antibodies present on the membrane of strip A (test line), the anti-type B antibodies present on the membrane of strip B (test line), the anti-*RSV* antibodies present on the membrane of strip C (test line) and the anti-*Adenovirus* antibodies present on the membrane of strip D (test line) capture the coloured conjugate and a red line will be visible in the strips. These bands are used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no *Influenza* type A or type B, *RSV* and *Adenovirus* antigens presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with any red-coloured conjugate complex. The anti-*Influenza* type A, the anti-*Influenza* type B, the anti-*RSV* and the anti-*Adenovirus* antibodies present on the membranes (test lines) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red lines will not appear.

Whether the sample is positive or not, in the four strips, the mixture continues to move across the membranes to the immobilized specific antibodies placed in the control lines. The anti-specific protein antibodies present on the four membranes will capture control green-conjugate complex and the four control lines will always appear. The presence of these green lines serve as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

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

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provide in the kit are approved for use in the CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test. Do not use any other commercial kit component.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Samples should be processed as soon as possible after collection. If this is not possible, the samples can be stored in the refrigerator (2-8 °C) for 8 hours prior to testing.

Specimen preparation (see illustration):

Nasopharyngeal swab method:

1. Remove the swab from its packing.
2. Collect specimen with a sterile swab from one nostril.
3. Insert the swab into the nostril to the nasopharynx, rotating against the nasal wall (to ensure swab contains cells as well as mucus).
4. Repeat procedure using other nostril.
5. Process the swab as soon as possible after collecting the specimen.
6. Take out the cap of the sample collection tube with Reagent B (1).
7. Introduce the swab into the sample collection tube (2) and mix the solution by rotating the swab forcefully against the side of the tube at least 1 minute. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the tube or rotating the swab against the side of the tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
8. Close the tube with the reagent and sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion. Mix 60s (3).





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

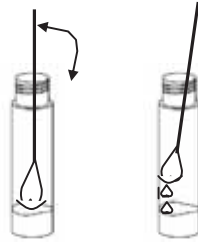
One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette



Specimen collection



(1) Take out the cap of sample collection tube



(2) Introduce the swab into the tube, rotating 1 minute and extract the liquid



(3) Mix 60s

Nasopharyngeal aspirate method (suction apparatus, sterile suction catheter):

For adult:

1. Place the irrigator up to the nose.
2. 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.
3. 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:

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

Sample procedure for both samples (adult and children):

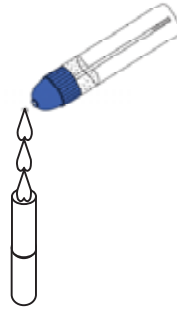
4. Add 6 drops (1) of the nasal wash or aspirate samples with a pipette and 9 drops (2) of Reagent B in a testing tube. Mixer with vortex at least 1 minute (3) to homogenize.



Specimen collection



(1) Add 6 drops of nasal wash



(2) Add 9 drops of Reagent B



(3) Mix the solution with vortex 1 minute





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card tests
- Sample collection tubes with diluent (Reagent B)
- Swabs
- Disposable pipettes
- Testing tubes
- Instructions for use

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer
- Vortex

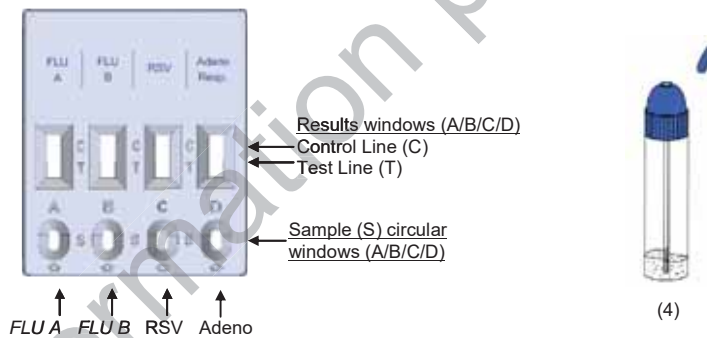
TEST PROCEDURE

Allow tests, samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

- Procedure A using nasopharyngeal swab samples:

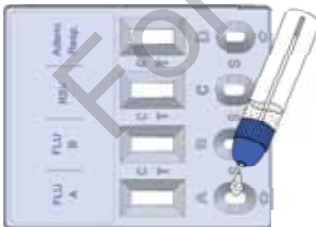
1. Proceed to shake the sample collection tube in order to assure good sample dispersion.
2. Remove the CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test from its sealed bag just before using it.
3. Take the collection tube, cut the end of the cap (4) and, using each time the same tube, dispense 4 drops in the circular window marked with the letter A (5), 4 drops in the circular window marked with the letter B (6), 4 drops in the circular window marked with the letter C (7) and 4 drops in the circular window marked with the letter D (8).
4. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.

If the test does not run due to the type of sample, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of reagent B until seeing the liquid running through the reaction zone.



Influenza A Strip A-procedure

Add 4 drops in A-circular window



(5)

Influenza B Strip B-procedure

Add 4 drops in B-circular window



(6)

RSV Strip C-procedure

Add 4 drops in C-circular window



(7)

Adenovirus Strip D-procedure

Add 4 drops in D-circular window



(8)





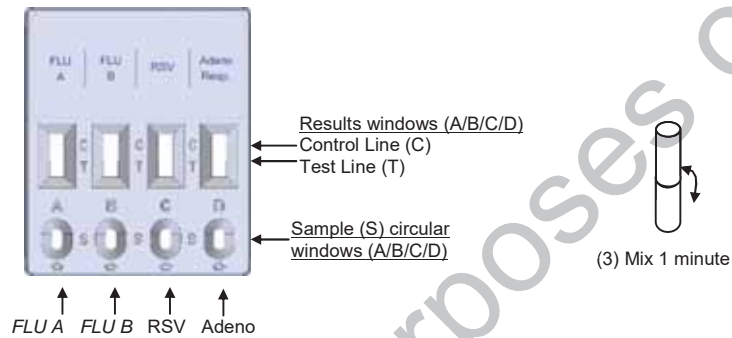
CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

- Procedure B using nasopharyngeal wash or aspirate samples:

1. Mix the solution with the vortex at least 1 minute. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution (3).
2. Remove the CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test from its sealed bag just before using it.
3. Dispense, each time from the same testing tube, 4 drops in the circular window marked with letter A (4), 4 drops in the circular window marked with the letter B (5), 4 drops in the circular window marked with the letter C (6) and 4 drops in the circular window marked with the letter D (7).
4. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.

If the test does not run due to the type of sample, stir the sample added in the sample window (S) with the pipette. If it doesn't work, dispense a drop of reagent B until seeing the liquid running through the reaction zone.



Influenza A Strip A-procedure

Add 4 drops in A-circular window



(4)

Influenza B Strip B-procedure

Add 4 drops in B-circular window



(5)

RSV Strip C-procedure

Add 4 drops in C-circular window



(6)

Adenovirus Strip D-procedure

Add 4 drops in D-circular window



(7)



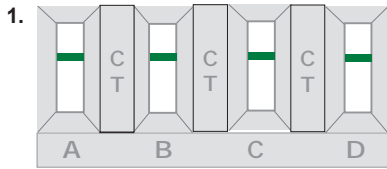


CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

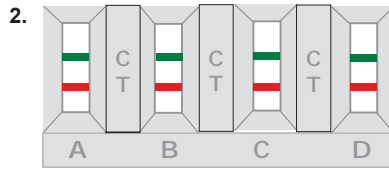
One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)

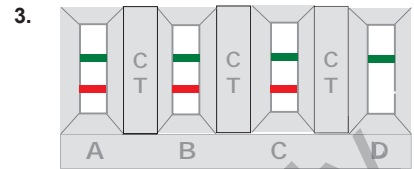
VALID RESULTS



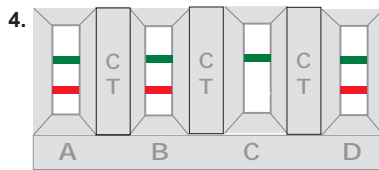
A: Green→Negative FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green→Negative Adeno



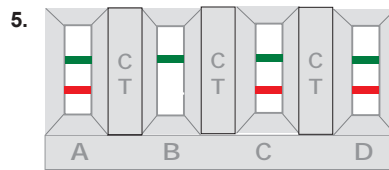
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green/Red→Positive FLU B
C: Green/Red→Positive RSV
D: Green/Red→Positive Adeno



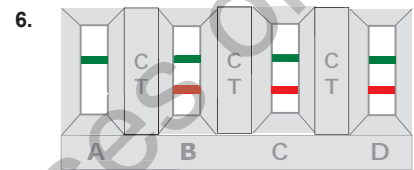
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green/Red→Positive FLU B
C: Green/Red→Positive RSV
D: Green→Negative Adeno



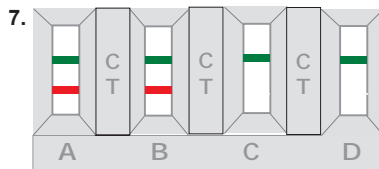
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green/Red→Positive FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green/Red→Positive Adeno



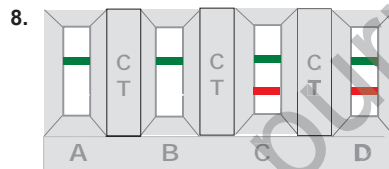
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green/Red→Positive RSV
D: Green/Red→Positive Adeno



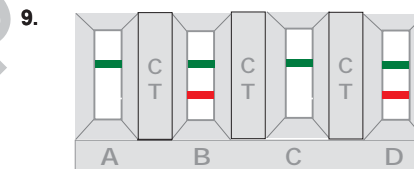
A: Green→Negative FLU A
B: Green/Red→Positive FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green/Red→Positive Adeno



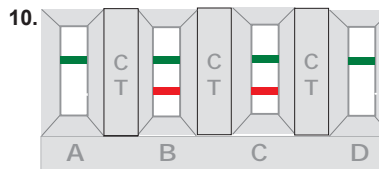
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green/Red→Positive FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green→Negative Adeno



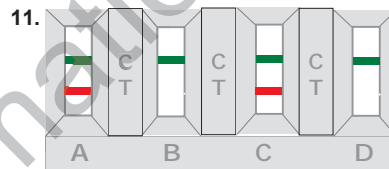
A: Green→Negative FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green/Red→Positive RSV
D: Green/Red→Positive Adeno



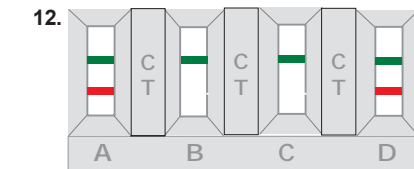
A: Green→Negative FLU A
B: Green/Red→Positive FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green/Red→Positive Adeno



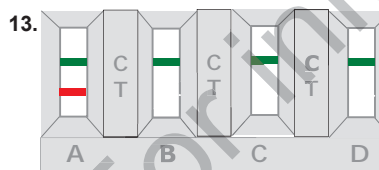
A: Green→Negative FLU A
B: Green/Red→Positive FLU B
C: Green/Red→Positive RSV
D: Green→Negative Adeno



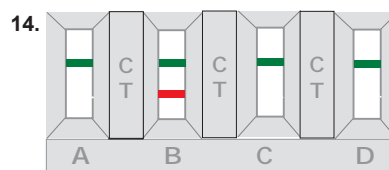
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green/Red→Positive RSV
D: Green→Negative Adeno



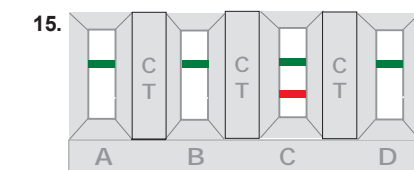
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green/Red→Positive Adeno



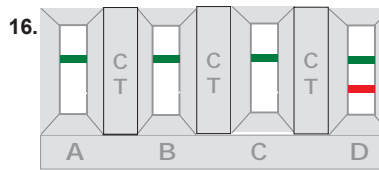
A: Green/Red→Positive FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green→Negative Adeno



A: Green→Negative FLU A
B: Green→Positive FLU B
C: Green/Red→Negative RSV
D: Green→Negative Adeno



A: Green→Negative FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green/Red→Positive RSV
D: Green→Negative Adeno



A: Green→Negative FLU A
B: Green→Negative FLU B
C: Green→Negative RSV
D: Green/Red→Positive Adeno





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

*One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette*

	A (Influenza A)	B (Influenza B)	C (RSV)	D (Adeno)	Interpretation of the results
1.	- GREEN	- GREEN	- GREEN	- GREEN	No infection caused by <i>Influenza</i> type A and type B, <i>Respiratory Syncytial Virus</i> and <i>Adenovirus</i> .
2.	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type A, <i>Influenza</i> type B, <i>Respiratory Syncytial Virus</i> and <i>Adenovirus</i> .
3.	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	- GREEN	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type A, <i>Influenza</i> type B and <i>Respiratory Syncytial Virus</i> .
4.	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	- GREEN	+ GREEN-RED	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type A, <i>Influenza</i> type B and <i>Adenovirus</i> .
5.	+ GREEN-RED	- GREEN	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type A, <i>Respiratory Syncytial Virus</i> and <i>Adenovirus</i> .
6.	- GREEN	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type B, <i>Respiratory Syncytial Virus</i> and <i>Adenovirus</i> .
7.	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	- GREEN	- GREEN	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type A and type B.
8.	- GREEN	- GREEN	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	Simultaneous infection caused by <i>Respiratory Syncytial Virus</i> and <i>Adenovirus</i> .
9.	- GREEN	+ GREEN-RED	- GREEN	+ GREEN-RED	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type B and <i>Adenovirus</i> .
10.	- GREEN	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	- GREEN	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type B and <i>Respiratory Syncytial Virus</i> .
11.	+ GREEN-RED	- GREEN	+ GREEN-RED	- GREEN	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type A and <i>Respiratory Syncytial Virus</i> .
12.	+ GREEN-RED	- GREEN	- GREEN	+ GREEN-RED	Simultaneous infection caused by <i>Influenza</i> type A and <i>Adenovirus</i> .
13.	+ GREEN-RED	- GREEN	- GREEN	- GREEN	Infection caused by <i>Influenza</i> type A.
14.	- GREEN	+ GREEN-RED	- GREEN	- GREEN	Infection caused by <i>Influenza</i> type B.
15.	- GREEN	- GREEN	+ GREEN-RED	- GREEN	Infection caused by <i>RSV</i> .
16.	- GREEN	- GREEN	- GREEN	+ GREEN-RED	Infection caused by <i>Adenovirus</i> .
17.	Any other result				Invalid result: either A, B, C or D, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.

Whatever result detailed in the above-mentioned table (2 to 16) should be followed up with additional confirmatory diagnostic procedures.

Whatever results detailed between 2 and 6 are not very common. Dual simultaneous respiratory infections are more frequent than triple or quadruple respiratory virus infection.

INVALID: Total absence of control coloured lines (GREEN) regardless the appearance or not of the test lines (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control lines failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured bands in the test lines (T) in the results windows 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 procedural controls are included in the test. The green lines appearing in the control lines (C) in the results windows are internal controls, which confirm sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
2. CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test should be used only with nasopharyngeal swab, nasopharyngeal wash and 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 nasopharyngeal specimens must be obtained.
3. The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentration to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
4. Positive results determine the presence of *Influenza* type A, *Influenza* type B, *RSV* and/or *Adenovirus* respiratory infection. A confirmed infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
5. A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the nasopharyngeal swab, nasopharyngeal wash and aspirate samples is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, it is recommended that all negative results undergo confirmatory testing using other method and/or virus identification by cell culture and PCR.

EXPECTED VALUES

Multiple viral infections are frequent in hospitalized children with respiratory tract disease (17.4%). Multiple viral infections are linked to higher fever, longer hospital stays and more frequent use of antibiotics than in the case of infants with single RSV infections.

Respiratory Syncytial Virus (RSV) is the leading cause of emergency visits and hospitalization for acute lower respiratory tract infections (LRTI) in infants and young children worldwide.

In adults and older, healthy children, the symptoms of *Respiratory Syncytial Virus* are mild and typically mimic the common cold. Self-care measures are usually all that's needed to relieve any discomfort.

Infection with *Respiratory Syncytial Virus* can be severe in some cases, especially in premature babies and infants with underlying health conditions. RSV can also become serious in older adults, adults with heart and lung diseases, or anyone with a very weak immune system (immunocompromised).

The exact prevalence and incidence of adenoviral infections are unknown, because most cases are seen by general practitioners and optometrists. *Adenovirus* is a very common infection, estimated to be responsible for between 2% and 5% of all respiratory infections. In winter, infection with type 4 or 7 causes recognisable illness in military recruits, with about 25% requiring hospitalisation for fever and lower respiratory tract disease.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical sensitivity and specificity

The evaluation, with nasopharyngeal samples, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*, CerTest) and others commercial available immunochromatographic test (BinaxNOW® *Influenza A&B* (Alere), BinaxNOW® *RSV* (Alere) and *Adenovirus Respi*, (CorisBioConcept)) and a commercial available Immunofluorescence test (PathoDx® *Adenovirus*, Remel). The results were as follows:

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (<i>Influenza A and B</i>)	IC test: BinaxNOW® <i>Influenza A&B</i>		
		+	-
+	5	0	5
-	0	6	6
Total	5	6	11





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect *Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus* en formato cassette

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (<i>Influenza A and B</i>) vs BinaxNow® <i>Influenza A&B</i>	>99%	>99%	>99%	>99%

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (RSV)	IC test: BinaxNOW® RSV			Total
	+	-		
+	18	0		5
-	1	10		11
Total	19	10		29

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (RSV) vs BinaxNow® RSV	95%	>99%	>99%	91%

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (Adenovirus Resp.)	IFI test: PathoDx® Adenovirus			Total
	+	-		
+	20	0		20
-	0	5		5
Total	20	5		25

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (Adenovirus Resp.)	IC test: Adenovirus Respi			Total
	+	-		
+	20	0		20
-	0	5		5
Total	20	5		25

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (Adenovirus) vs PathoDx® Adenovirus and Adenovirus Respi	>99%	>99%	>99%	>99%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect *Influenza* type A and type B, *Respiratory Syncytial Virus* and *Adenovirus* using CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

*One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette*

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*; no cross reactivity against organisms that cause other respiratory infections:

- *Influenza type A strip no cross reactivity with:*

<i>Influenza type B</i>	<i>Respiratory Syncytial Virus</i>	<i>Adenovirus</i>
-------------------------	------------------------------------	-------------------
- *Influenza type B strip no cross reaction with:*

<i>Influenza type A</i>	<i>Respiratory Syncytial Virus</i>	<i>Adenovirus</i>
-------------------------	------------------------------------	-------------------
- *RSV strip no cross reaction with:*

<i>Influenza type A</i>	<i>Influenza type B</i>	<i>Adenovirus</i>
-------------------------	-------------------------	-------------------
- *Adenovirus strip no cross reaction with:*

<i>Influenza type A</i>	<i>Influenza type B</i>	<i>Respiratory Syncytial Virus</i>
-------------------------	-------------------------	------------------------------------

For information purposes only





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

ESPAÑOL

USO PREVISTO

CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de antígenos de *Influenza* tipo A y tipo B, del *Virus Respiratorio Sincitial* y de *Adenovirus* a partir de muestras de hisopos, lavados o aspirados nasofaríngeos.

CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección causada por *Influenza* tipo A y tipo B, *Virus Respiratorio Sincitial* y *Adenovirus*. La presentación clínica causada por este grupo de virus heterogéneo es bastante similar. Por lo tanto, la implantación de este ensayo cualitativo que identifica de una forma rápida a los virus causantes de esta clínica es de un gran interés.

INTRODUCCIÓN

La gripe está causada por un virus (*Influenza*) que ataca principalmente el 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, la gripe puede ocasionar un riesgo serio. En estas personas esta infección puede provocar graves complicaciones asociadas a 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 3 subtipos que son importantes para humanos: A (H3N2), A (H1N1) y A (H5N1), 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).

El *Virus Respiratorio Sincitial* es uno de los principales causantes de la bronquiolitis y de la neumonía en niños menores de 1 año. La enfermedad suele comenzar con fiebre, resfriado, tos y con respiración ruidosa. La enfermedad cuando afecta al tracto respiratorio inferior suele ser grave y puede afectar especialmente a personas ancianas o aquellas con problemas cardíacos, pulmonares o del sistema inmune. RSV se contagia a partir de las secreciones respiratorias por contacto directo con personas infectadas o indirecto con superficies u objetos contaminados.

Es más frecuente que los *Adenovirus* causen una enfermedad respiratoria; sin embargo, también pueden causar otras enfermedades como gastroenteritis, conjuntivitis, cistitis y sarpullidos, dependiendo del serotipo de *Adenovirus* que causa la infección. Los síntomas de la enfermedad respiratoria causados por la infección de *Adenovirus* pueden pasar del síndrome de resfriado común a una neumonía, laringotraqueobronquitis y bronquitis. Los pacientes con sistemas inmunes comprometidos son especialmente susceptibles a complicaciones graves de la infección por *Adenovirus*. Los distintos tipos de *Adenovirus* se transmiten mediante el contacto directo, transmisión feco-oral y ocasionalmente a través de agua. Algunos tipos son capaces de establecer infecciones persistentes y asintomáticas en las amígdalas, adenoides e intestinos de huéspedes infectados; y el virus puede ser eliminado durante meses o años.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Influenza* tipo A en la tira A, de *Influenza* tipo B en la tira B, de RSV en la tira C y de *Adenovirus* en la tira D a partir de muestras de hisopos, lavados o aspirados nasofaríngeos.

Tira A consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos de *Influenza* tipo A en la línea del test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado: una preparación de reactivos para la línea de test con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Influenza* tipo A conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira B consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos de *Influenza* tipo B en la línea del test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado: una preparación de reactivos para la línea de test con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Influenza* tipo B conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

Tira C consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos de *Virus Respiratorio Sincitial* en la línea del test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado: una preparación de reactivos para la línea de test con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *RSV* conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira D consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos de *Adenovirus* en la línea del test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado: una preparación de reactivos para la línea de test con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Adenovirus* conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es *Influenza* tipo A positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-tipo A-microesferas rojas de látex) en la tira A y si la muestra es *Influenza* tipo B positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-tipo B-microesferas rojas de látex) en la tira B, los cuales fueron secados previamente en el material absorbente. Si la muestra es *RSV* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*RSV*-microesferas rojas de látex) en la tira C y si la muestra es *Adenovirus* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Adenovirus*-microesferas rojas de látex) en la tira D, los cuales fueron secados previamente en el material absorbente. Estas mezclas avanzan por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-*Influenza* tipo A presentes en la membrana de la tira A (línea de test), los anticuerpos anti-*Influenza* tipo B presentes en la membrana de la tira B (línea del test), los anticuerpos anti-*RSV* presentes en la membrana de la tira C (línea del test) y los anticuerpos anti-*Adenovirus* presentes en la membrana de la tira D (línea del test), capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá en las tiras. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de *Influenza* tipo A ni de *Influenza* tipo B, ni de *RSV*, ni de *Adenovirus* en la muestra o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se producirá reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*Influenza* tipo A, anti-*Influenza* tipo B, anti-*RSV* y anti-*Adenovirus* presentes en las membranas (líneas de test) no capturarán los antígenos-complejos coloreados rojo (no formados) y no aparecerán las líneas rojas.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, en las cuatro tiras, la mezcla continuará moviéndose a través de las membranas hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en las líneas de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en las cuatro membranas capturarán el complejo conjugado de control y las líneas de control verdes siempre aparecerán. La aparición de estas líneas se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada una de las muestras para evitar errores de contaminación.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.



RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser procesadas lo más pronto posible tras su recolección. Si esto no fuera posible, las muestras pueden ser almacenadas en el frigorífico (2-8°C) durante 8 horas antes de realizar la prueba.

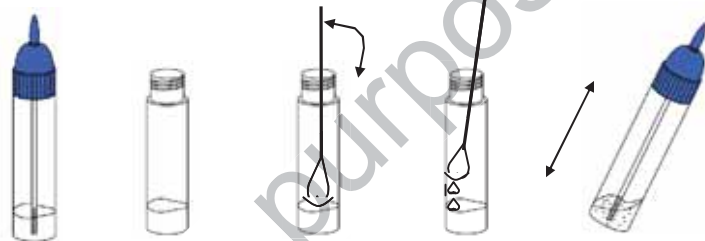
Preparación de la muestra (ver dibujo):

Método de hisopo nasofaríngeo:

1. Sacar el hisopo de su envase.
2. Tomar la muestra con un hisopo estéril a partir de un orificio nasal.
3. Introducir el hisopo dentro del orificio hacia la nasofaringe, rotando contra la pared nasal (asegurarse de que el hisopo contenga células así como mocos).
4. Repetir el procedimiento con el otro orificio nasal.
5. Procesar el hisopo tan pronto como sea posible tras la recolección de la muestra.
6. Quitar el tapón del tubo para dilución de muestra con Reactivo B (1).
7. Introducir el hisopo en el tubo para dilución de muestra (2) y agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos durante 1 minuto. Se obtendrán mejores resultados si la muestra es extraída de forma vigorosa. Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionando contra las paredes del tubo hasta que el hisopo quede seco. Tirar el hisopo.
8. Cerrar el tubo con el reactivo y con la muestra. Agitar el tubo para asegurar una buena dispersión. Mezclar 60s (3).



Toma de muestra



(1) Quitar el tapón del tubo para dilución de muestra

(2) Introducir el hisopo en el tubo, rotarlo 1 minuto y extraer el líquido

(3) Mezclar 60s

Método de aspirado nasofaríngeo (aparato de succión, catéter estéril de succión):

Para adultos:

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

Para niños:

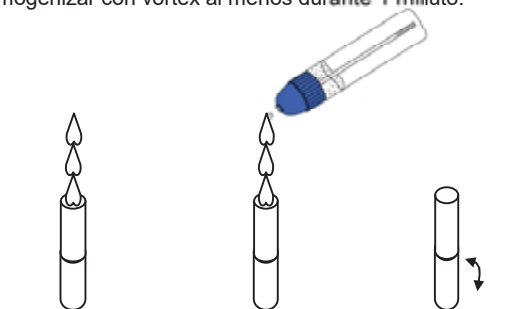
1. Usar una jeringa o un gotero para instilar la solución salina en un lado de la nariz inclinando la cabeza del niño.
2. Aspirar la mezcla de agua salina con mocos con la jeringa o gotero y transferir a un recipiente limpio.
3. Repetir con el otro lado de la nariz y transferir el líquido al mismo recipiente.

Procedimiento para ambas muestras (adulto y niño):

4. Añadir 6 gotas (1) del lavado o aspirado nasal en un tubo de ensayo con la pipeta proporcionada con el test y a continuación, añadir 9 gotas (2) del Reactivo B en el mismo tubo de ensayo. Homogenizar con vórtex al menos durante 1 minuto.



Toma de muestra



(1) Añadir 6 gotas de lavado nasal

(2) Añadir 9 gotas de Reactivo B

(3) Mezclar la solución con el vórtex 1 minuto



CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* combo card tests
- Tubos para dilución de muestra con diluyente (Reactivo B)
- Hisopos
- Pipetas desechables
- Tubos de ensayo
- Instrucciones de uso

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de muestra
- Guantes desechables
- Cronómetro
- Vórtex o agitador

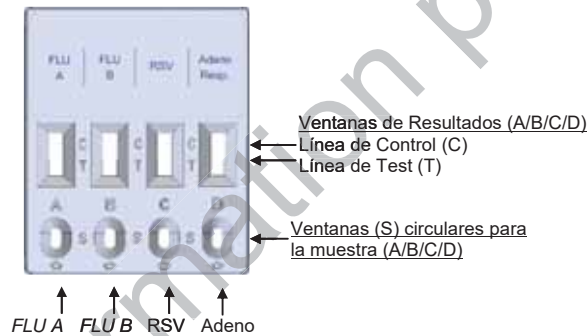
PROCEDIMIENTO

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

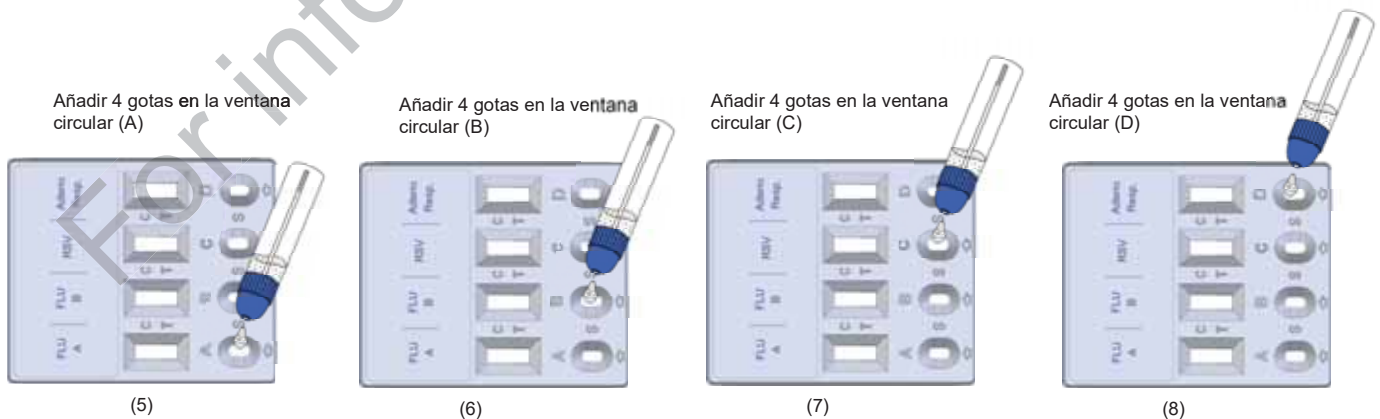
Procedimiento A usando muestra a partir de hisopo nasofaríngeo:

1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* de su envase en el momento antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (4), usando el mismo tubo cada vez, añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra A (5), añadir 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra B (6), añadir 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra C (7) y añadir 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra D (8).
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido al tipo de muestra, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de reactivo B hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



Procedimiento Tira A Influenza A Procedimiento Tira B Influenza B Procedimiento Tira C RSV Procedimiento Tira D Adenovirus





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

Procedimiento B utilizando lavado o aspirado nasofaríngeo:

1. Homogenizar la muestra diluida en el tubo de ensayo con vórtex al menos durante 1 minuto. Se obtienen mejores resultados cuando la muestra es extraída de forma vigorosa (3).
2. Sacar el test CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* de su envase en el momento antes de utilizarlo.
3. A partir del mismo tubo, dispensar 4 gotas de la muestra homogenizada en la ventana circular marcada con la letra A (4), añadir 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra B (5), añadir 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra C (6) y añadir 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra D (7).
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido al tipo de muestra, agitar con la pipeta la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de reactivo B hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



Procedimiento Tira A Influenza A

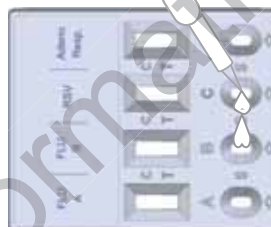
Añadir 4 gotas en la ventana circular (A)



(4)

Procedimiento Tira B Influenza B

Añadir 4 gotas en la ventana circular (B)



(5)

Procedimiento Tira C RSV

Añadir 4 gotas en la ventana circular (C)



(6)

Procedimiento Tira D Adenovirus

Añadir 4 gotas en la ventana circular (D)

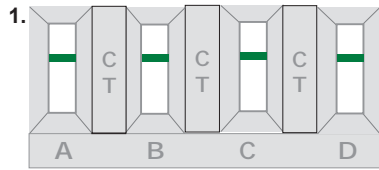


(7)

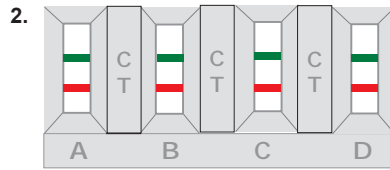


INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)

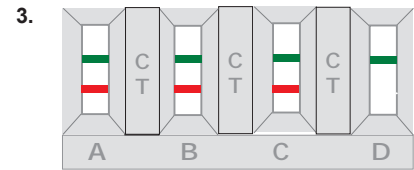
RESULTADOS VÁLIDOS



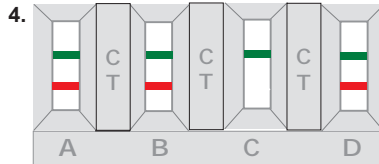
A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



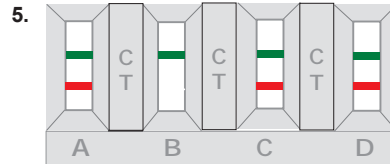
A: Verde/Rojo→Positivo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



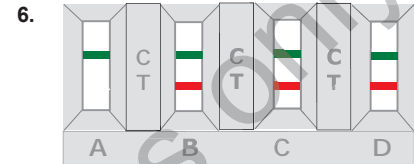
A: Verde/Rojo→Positivo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



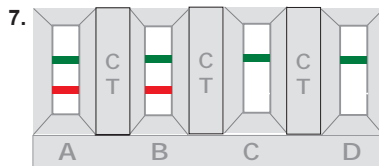
A: Verde/Rojo→Positivo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



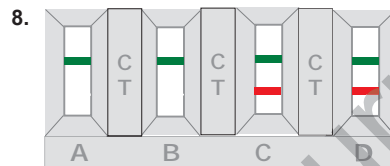
A: Verde/Rojo→Positivo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



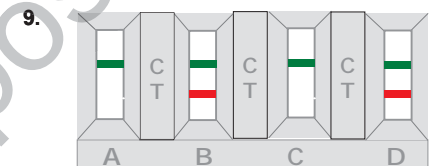
A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



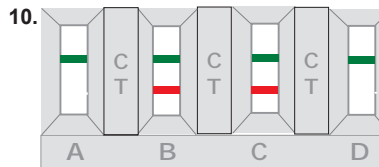
A: Verde/Rojo→Positivo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



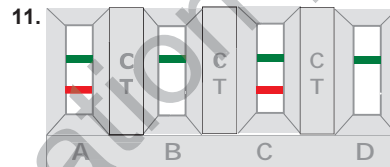
A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



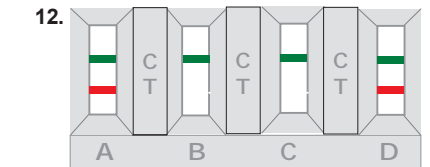
A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



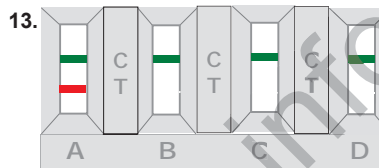
A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



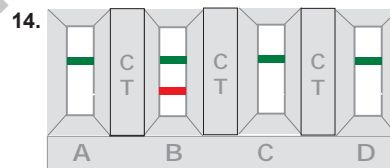
A: Verde/Red→Positivo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



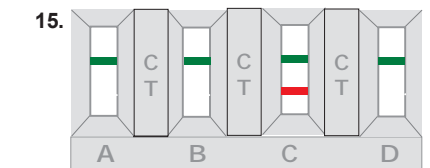
A: Verde/Rojo→Positivo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



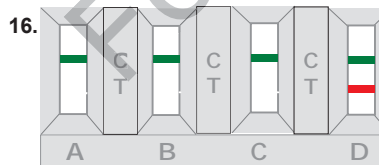
A: Verde/Rojo→Positivo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde/Rojo→Positivo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde/Rojo→Positivo RSV
D: Verde→Negativo Adeno



A: Verde→Negativo FLU A
B: Verde→Negativo FLU B
C: Verde→Negativo RSV
D: Verde/Rojo→Positivo Adeno



CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

	A (Influenza A)	B (Influenza B)	C (RSV)	D (Adeno)	Interpretación de los resultados
1.	- VERDE	- VERDE	- VERDE	- VERDE	No hay infección causada por <i>Influenza</i> de tipo A ni B, por <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> ni por <i>Adenovirus</i> .
2.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo A, tipo B, <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> y <i>Adenovirus</i> .
3.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo A, tipo B y <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> .
4.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo A, tipo B y <i>Adenovirus</i> .
5.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo A, <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> y <i>Adenovirus</i> .
6.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo B, <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> y <i>Adenovirus</i> .
7.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	- VERDE	- VERDE	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo A y tipo B.
8.	- VERDE	- VERDE	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Infección simultánea causada por <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> y <i>Adenovirus</i> .
9.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo B y <i>Adenovirus</i> .
10.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo B y <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> .
11.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo A y <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> .
12.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Infección simultánea causada por <i>Influenza</i> tipo A y <i>Adenovirus</i> .
13.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	- VERDE	- VERDE	Infección causada por <i>Influenza</i> tipo A.
14.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	- VERDE	- VERDE	Infección causada por <i>Influenza</i> tipo B.
15.	- VERDE	- VERDE	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Infección causada por <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> .
16.	- VERDE	- VERDE	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Infección causada por <i>Adenovirus</i> .
17.	Cualquier otro resultado				Resultado Inválido: tanto en A, B, C o en D, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

La aparición de cualquiera de los resultados del 2 al 16 de esta tabla, debe ser evaluado con otra prueba confirmatoria.

Cualquiera de los resultados entre el 2 y el 6 no son muy comunes. Las infecciones respiratorias dobles simultáneas son más frecuentes que las triples o cuádruples víricas.

INVÁLIDO: Cuando las líneas de control (VERDE) no aparecen, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

OBSERVACIONES

La intensidad de las líneas de color rojo en las líneas de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración 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.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos de funcionamiento vienen incluidos en la prueba. Las líneas verdes que aparecen en las zonas de las líneas de control (C) en las ventanas de resultados son los controles internos del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
- CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* debería utilizarse sólo con hisopos, lavados o aspirados nasofaríngeos. El uso de muestras tomadas con hisopos 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 nasofaríngeas.
- La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
- Los resultados positivos determinan la presencia de infección respiratoria por *Influenza* tipo A, *Influenza* tipo B, *RSV* y/o *Adenovirus*. Para confirmarlo deberían evaluarse por un especialista todos los hallazgos clínicos y de laboratorio basándose en la correlación entre estos resultados y las observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en muestras de hisopos, lavados o aspirados nasofaríngeos sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, se recomienda que los resultados negativos se confirmen mediante otro método y/o identificación del virus por cultivo celular y PCR.

VALORES ESPERADOS

Las infecciones víricas múltiples aparecen con más frecuencia en niños hospitalizados con enfermedades del aparato respiratorio. Estas infecciones múltiples víricas se asocian a fiebre alta, estancias largas en el hospital y más frecuentemente al uso de antibióticos en niños que en el caso de infecciones causadas únicamente por *RSV*.

El *Virus Respiratorio Sincitial (RSV)* es la principal causa de visitas a urgencias y hospitalización por infecciones agudas del tracto respiratorio inferior (LRTI) en bebés y niños pequeños en todo el mundo.

En adultos y ancianos, niños sanos, los síntomas del *Virus Respiratorio Sincitial* son leves y por lo general imitan al resfriado común. Las medidas de cuidado personal son, por lo general, todo lo que se necesita para aliviar cualquier malestar.

La infección por el *Virus Respiratorio Sincitial* puede ser grave en algunos casos, especialmente en bebés prematuros y recién nacidos con problemas de salud subyacentes. *RSV* puede convertirse también en serio en ancianos, adultos con enfermedades de corazón y pulmón, o cualquier persona con el sistema inmunitario muy débil (inmunocomprometido).

La prevalencia y la incidencia de infecciones por *Adenovirus* son desconocidas, porque la mayoría de los casos son vistos por médicos generales y optometristas. *Adenovirus* es una infección muy común, se estima que es responsable de entre el 2% y el 5% de todas las infecciones respiratorias. En invierno, la infección de tipo 4 o 7 causa la enfermedad reconocible en los reclutas militares, con necesidad de hospitalización de alrededor de un 25% por fiebre y enfermedad del tacto respiratorio inferior.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo la evaluación, con muestras de nasofaríngeas, comparando los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico (CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*, CerTest) y otros tests inmunocromatográficos comercializados ((BinaxNOW® *Influenza A&B* (Alere), BinaxNOW® *RSV* (Alere) y *Adenovirus Respi*, (CorisBioConcept)) y un test de inmunofluorescencia comercializado (PathoDx®*Adenovirus*, Remel). Los resultados se muestran a continuación:

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (<i>Influenza A y B</i>)	IC test: BINAXNow® <i>Influenza A&B</i>		
	+	-	Total
+	5	0	5
-	0	6	6
Total	5	6	11





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (<i>Influenza A y B</i>) vs BinaxNow® <i>Influenza A&B</i>	>99%	>99%	>99%	>99%

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (RSV)	IC test: BinaxNOW® RSV			Total
		+	-	
+		18	0	5
-		1	10	11
Total		19	10	29

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (RSV) vs BinaxNOW® RSV	95%	>99%	>99%	91%

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (Adenovirus)	IFI test: PathoDx® Adenovirus			Total
		+	-	
+		20	0	20
-		0	5	5
Total		20	5	25

IC test: CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (Adenovirus)	IC test: Adenovirus Respi			Total
		+	-	
+		20	0	20
-		0	5	5
Total		20	5	25

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.</i> (Adenovirus) vs PathoDx® Adenovirus Test and Adenovirus Respi Test	>99%	>99%	>99%	>99%

Los resultados mostraron que CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.* presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Influenza* tipo A y tipo B, *Virus Respiratorio Sincitial* y *Adenovirus*.





CERTEST *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*

One Step test to detect Influenza A, Influenza B, RSV and Adenovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Influenza A, Influenza B, RSV y Adenovirus en formato cassette

Reacciones cruzadas

Se llevó a cabo una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de CerTest *Influenza A+B+RSV+Adeno Resp.*; no se detectó reacción cruzada con organismos que causen otras infecciones respiratorias:

- Tira *Influenza* tipo A no hay reacción cruzada con:

<i>Influenza</i> tipo B	<i>Virus Respiratorio Sincitial</i>	<i>Adenovirus</i>
-------------------------	-------------------------------------	-------------------
- Tira *Influenza* tipo B no hay reacción cruzada con:

<i>Influenza</i> tipo A	<i>Virus Respiratorio Sincitial</i>	<i>Adenovirus</i>
-------------------------	-------------------------------------	-------------------
- Tira *RSV* no hay reacción cruzada con:








<i>Influenza</i> tipo A	<i>Influenza</i> tipo B	<i>Adenovirus</i>
-------------------------	-------------------------	-------------------
- Tira *Adenovirus* no hay reacción cruzada con:

<i>Influenza</i> tipo A	<i>Influenza</i> tipo B	<i>Virus Respiratorio Sincitial</i>
-------------------------	-------------------------	-------------------------------------

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

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.
5. MARCELA ECHAVARRIA, JOSE L. SANCHEZ, et al. “Rapid Detection of *Adenovirus* in Throat Swab Specimens by PCR during Respiratory Disease Outbreaks among Military Recruits”, *Journal of Clinical Microbiology*, Feb. 2003, Vol. 41, No. 2, p. 810–812
6. MARILYN J. AUGUST AND ANN L. WARFORD; “Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody for Detection of *Adenovirus* Antigen” *Journal of Clinical Microbiology*, Nov. 1987, Vol. 25, No. 11; p. 2233-2235
7. ANN R. FALSEY and EDWARD E. WALSH. “Respiratory Syncytial Infection in Adults”, *Clinical Microbiology Reviews*, July 2000, Vol. 13, No.3, p. 371-384.
8. DIANE C. HALSTEAD, SANDRA TODD, and GALE FRITCH; “Evaluation of Five Methods for Respiratory Syncytial Virus Detection” *Journal of Clinical Microbiology*, May 1990, Vol. 28, No. 5; p. 1021-1025.
9. LINA B, VALETTE M, FORAY S, et al. “Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995”, *J Clin Microbiol* 1996;34:3007–3011
10. DREWS AL, ATMAR RL, GLEZEN WP, BAXTER BD, PIEDRA PA, GREENBERG SB. “Dual respiratory virus infections”, *Clin Infect Dis* 1997;25:1421–1429.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

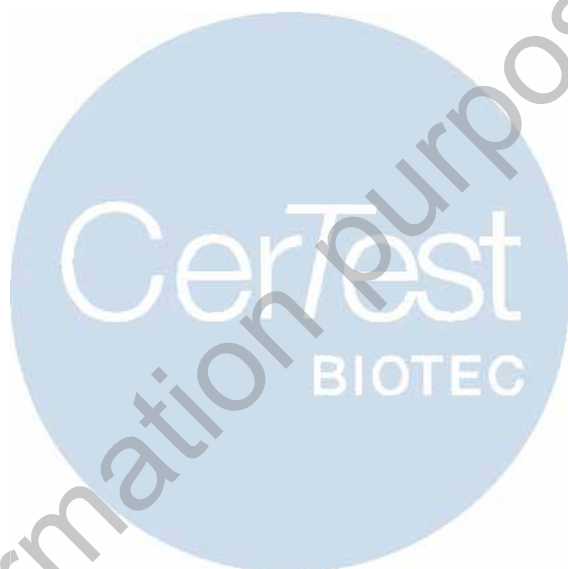
 IVD <i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 LOT Batch code Número de lote
 Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	DIL Sample diluent Diluyente de muestra	 REF Catalogue number Número de referencia



For information purposes only



For information purposes only



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

