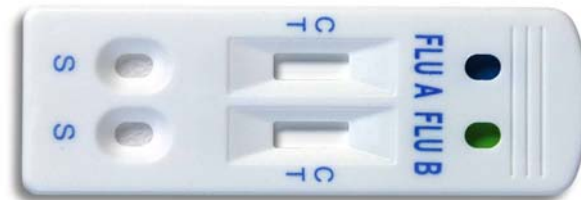


Influenza A/B 2 Kassettentest

Kat.-Nr. wi-flu-k5/k10

5 bzw. 10 Stück, einzeln eingesiegelt

**Schnelltest für den Nachweis von Influenza (Typen A und B) aus dem Nasenschleimhautabstrich.
Nur für den *In Vitro* diagnostischen Gebrauch durch professionelle Anwender**



ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Influenza, allgemein als Grippe bezeichnet, handelt es sich um eine ansteckende Atemwegserkrankung, die Vögel und Säuger befällt (in erster Linie obere Atemwege und Lungen bei Säugern). Die Erreger sind RNA-Viren der Orthomyxoviridae-Familie. Die am häufigsten auftretenden und charakteristischen Symptome der Influenza beim Menschen sind Fieber, Halsentzündung, Muskelschmerzen, starke Kopfschmerzen, Husten und ein Unwohlsein, das sich in Schwäche und Müdigkeit äußert.¹

VERWENDUNGSZWECK

Der Test wird als Hilfsmittel in der Schnelldiagnostik der akuten Influenza Typ A und Typ B Virusinfektion verwendet.

Der WiduMed Influenza A/B 2 Kassettentest ist ein qualitativer immunchromatographischer Schnelltest, der Influenza Typ A und B - Antigene aus der Nasenschleimhaut nachweist. Er kann zwischen Influenza Typ A und Typ B differenzieren und weist Nukleoproteine des Influenza Subtyps A unabhängig von den H und N Oberflächenproteinen (inklusive H1N1 und H3N2) nach. Er ist daher in der Lage, Viren vom Subtyp H1N1 zu erkennen⁸. Dabei ist ein positiver Nachweis stark abhängig von der Viruskonzentration im Probenmaterial. **Bei weiterem Verdacht trotz negativem Testergebnis sollte dieses noch einmal in der Zellkultur oder der RT-PCR bestätigt werden.** Nur für den professionellen Gebrauch.

TESTPRINZIP

Der WiduMed Influenza A/B 2 Kassettentest ist ein qualitativer immunchromatographischer Schnelltest. Der Test verwendet monoklonale Antikörper und weist Influenza Typ A - (Nukleoprotein) und Typ B - Antigene (Oberflächenprotein) nach. Die Antigene werden aus respiratorischen Probenmaterial mit einem Extraktionspuffer extrahiert.

Im Testbereich sind monoklonale anti-Influenza-Antikörper (Maus) auf die Membran aufgetragen. Sind im Extrakt der Nasenabstrichprobe Influenza-Antigene enthalten, bilden diese mit im Startbereich des Testes vorhandenen Influenza-Antikörpern, die mit roten Partikeln markiert sind, einen Komplex, der durch die Kapillarwirkung durch die Membran wandert. Im Testbereich reagiert der Farbpartikel-Antikörper-Antigen-Komplex mit den dort immobilisierten anti-Influenza-Antikörpern und bildet eine rote Linie. Das Vorhandensein dieser roten Linie im Testbereich zeigt ein positives Ergebnis an, ihr Ausbleiben ein negatives. Im Bereich der Kontrollregion ist ein anti-Maus-Antikörper immobilisiert, der das im Überschuss enthaltene Reagenz (farbmarkierte anti-Influenza-Antikörper) bindet, wodurch die Funktionsfähigkeit des Tests überwacht wird. Sollte im Kontrollbereich keine rote Linie erscheinen, ist das Testergebnis ungültig.

LIEFERUMFANG

- Influenza-Testkassetten mit Pipette im Folienbeutel.
- beflockte Tupfer* (enthält Nylonfasern, Swab ist steril verpackt) nach Richtlinie 93/42/EWG
- Teströhrchen
- 1 Gebrauchsanweisung
- Extraktionspuffer (enthält Salzlösung mit Detergens)
- 1 Ständer für Teströhrchen

BENÖTIGT, ABER NICHT MITGELIEFERT

- Stoppuhr

*) beflockte Tupfer



LAGERUNG UND VORSICHTSMASSNAHMEN

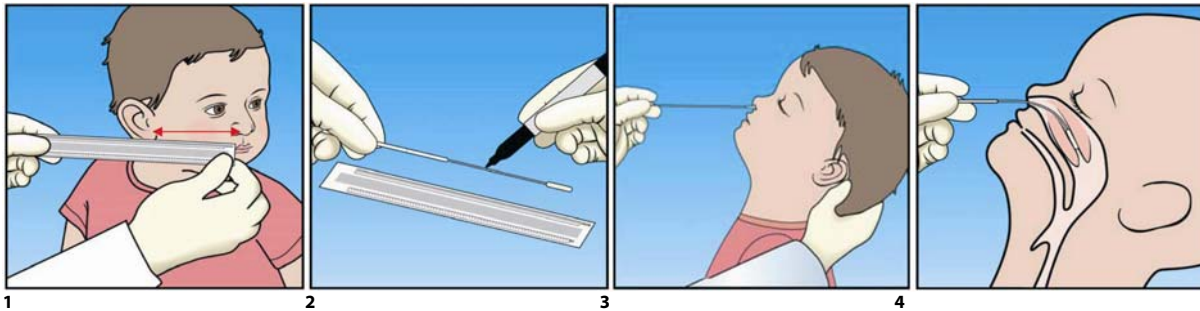
- Der WiduMed InfluenzaA/B 2 Kassettentest soll bei 4 – 30°C gelagert werden. Das Verfallsdatum wurde unter normalen Laborbedingungen ermittelt.
- Die Testkassette ist sowohl Feuchtigkeit als auch Hitze gegenüber empfindlich.
- Führen Sie den Test sofort durch, nachdem Sie die Kassette dem Folienbeutel entnommen haben.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Zusätzliche Daten über die einzelnen Kitkomponenten [Puffer und beflockter Tupfer (Swab)] sind mit dem Sicherheitsdatenblatt (MSDS) per Email (info@widufit.de) abrufbar.

WARNHINWEISE

- Nur für in-vitro-diagnostische Zwecke
- Essen und rauchen Sie nicht, wenn Sie Proben handhaben.
- Tragen Sie Schutzhandschuhe, um Kontakt mit den Proben zu vermeiden. Waschen Sie sich nach Versuchsdurchführung gründlich die Hände.
- Vermeiden Sie ein Verschütten oder Aerosolbildung.
- Reinigen Sie kontaminierte Flächen gründlich unter Verwendung eines geeigneten Desinfektionsmittels.
- Behandeln Sie alle Proben, Testbestandteile und anderes potentiell kontaminiertes Material wie infektiösen Sondermüll und entsorgen Sie es in einem Behälter für biologischen Sondermüll.
- Verwenden Sie den Test oder den sterilen Tupfer nicht, falls der Folienbeutel eingerissen ist oder sonstige Beschädigungen aufweist.



PROBENNAHME



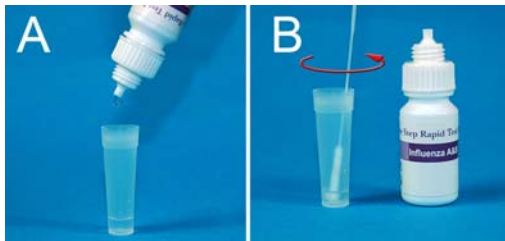
1. Es wird empfohlen, für diesen Test nur nasopharyngeale Proben (Nasenrachen) zu verwenden.
2. Drehen Sie den Kopf des Patienten ins Profil und messen Sie mit einem Lineal die Distanz zwischen Nasenloch und Ohr läppchen. Notieren Sie diesen gemessenen Wert (1).
3. Nehmen Sie den Tupfer aus dem Transportröhrchen und markieren Sie mit einem Permanent-Marker **die Hälfte der gemessenen Distanz** auf dem Tupfer (2).
4. Neigen Sie den Kopf des Patienten etwa um 70° nach hinten und führen Sie den sterilen Tupfer bis zu Ihrer aufgebrachten Markierung (2) in das Nasenloch ein, das die meiste Schleimhautabsonderung aufweist (3). Schieben und drehen Sie den Tupfer sehr vorsichtig, bis Sie in der Nasenmuschel (Nasenrachen) auf Widerstand stoßen. Drehen Sie den Tupfer sehr vorsichtig mehrmals in Kontakt mit der Nasenwand (4).

VORBEREITUNG DER TESTREAGENZEN

Bei Lagerung der Testkassetten und Testpuffer im Kühlschrank müssen diese vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden. Vorher darf der Test nicht dem Folienbeutel entnommen werden.

PROBENVORBEREITUNG

1. Geben Sie 10 Tropfen Extraktionspuffer in das Teströhrchen (Abbildung A),
2. Geben Sie den Tupfer in das Teströhrchen und drehen Sie ihn für 10 – 15 Sekunden schnell zwischen Daumen und Zeigefinger hin und her (Abbildung B).
3. Entsorgen Sie den Tupfer entsprechend den Vorschriften.



TESTDURCHFÜHRUNG

1. Entnehmen Sie die Testkassette dem Folienbeutel und legen Sie sie auf eine flache, trockene und saubere Oberfläche.
2. Halten Sie die Pipette über den Test und geben Sie nacheinander 3 Tropfen der Proben/Puffer-Mischung in die Probenöffnung (S). Warten Sie dabei, bis jeder einzelne Tropfen in der Probenöffnung (S) aufgesogen ist, bevor Sie den nächsten zutropfen. Falls der erste Tropfen nach 30 Sekunden noch nicht aufgesogen ist, geben Sie 2 weitere Tropfen Puffer direkt aus der Pufferflasche in die Probenöffnung (S). Die Zugabe weiterer Tropfen aus dem Teströhrchen mit Proben/Extraktionspuffer-Gemisch entfällt in diesem Fall.
3. Während der Test läuft, werden Sie eine rötliche Flüssigkeitsfront durch das Testfenster in der Mitte der Testkassette wandern sehen.
4. Werten Sie den Test nach 10 Minuten aus. Lesen Sie nach mehr als 15 Minuten keine Ergebnisse mehr ab.

Bitte beachten Sie:

Die oben angegebene Ableszeit basiert auf einer Umgebungstemperatur von 15 bis 30°C. Sollte die Temperatur, bei der der Test durchgeführt wird, deutlich unter 15°C liegen, muss die Wartezeit bis zur Ablesung entsprechend verlängert werden.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- Eine farbige Linie erscheint in mit „C“ markierten Bereich des Testfensters. Es handelt sich um die Kontroll-Linie, die eine ordnungsgemäße Funktion des Tests anzeigt.
- Im mit „T“ markierten Bereich des Testfensters erscheint gegebenenfalls die Testlinie.



Figure 1



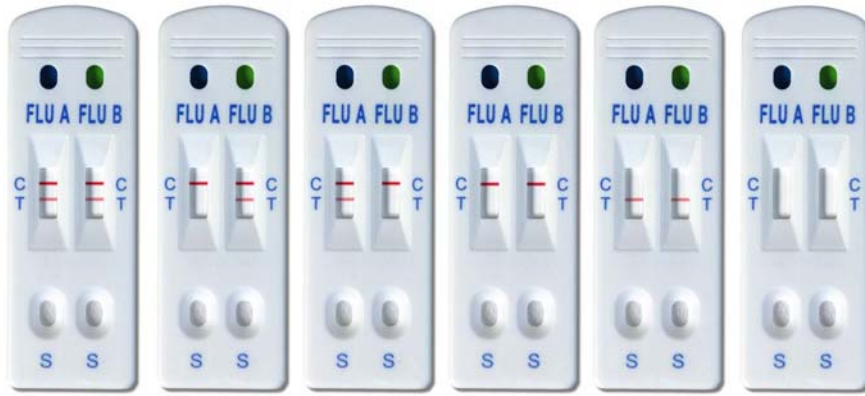


Figure 2

Figure 3

Figure 4

Figure 5

Figure 6

Figure 7

Positive Ergebnisse: Sind zwei Linien („T“ und „C“) im Ergebnisfenster von Influenza A und/oder Influenza B vorhanden, bedeutet dies ein positives Testergebnis für Influenza A und/oder Influenza B, unabhängig davon welche Linie zuerst erscheint. (Figures 2, 3 und 4).

Hinweis: Je höher der Gehalt des Antigens in der Probe, desto intensiver erscheint die Färbung der T-Linie. Je geringer der Gehalt des Antigens (Inf-A/Inf-B) in der Probe, desto blasser fällt die Färbung der T-Linie aus; liegt der Antigengehalt unter der Nachweisgrenze, so wird keine Linie erkennbar.

Negatives Ergebnis: Nur die C-Linie erscheint im Ergebnisfenster (Figure 5).

Ungültiges Ergebnis: Falls nach Testdurchführung nur eine T-Linie oder aber gar keine Linie erscheint, ist das Testergebnis ungültig (Figures 6 and 7). Mögliche Ursachen sind Abweichungen von der Testvorschrift bei der Durchführung. Stellen Sie sicher, dass die verwendeten Tests nicht abgelaufen sind, lesen Sie die Gebrauchsanweisung noch einmal und wiederholen Sie die Bestimmung mit einem neuen Test. Sollte das Problem erneut auftreten, wenden Sie sich bitte an den Hersteller.

Bemerkung: Liegt ein positives Testergebnis vor, wird sich dies nach mehr als 15 Minuten nicht ändern. Jedoch sollen Tests nach mehr als 15 Minuten nicht mehr abgelesen werden, um falschen Resultaten vorzubeugen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Interne Qualitätskontrolle

Die Vorgehensweise bei der Qualitätskontrolle erfolgt genau nach den oben genannten Angaben in „Probenvorbereitung“, „Testdurchführung“ sowie „Testauswertung“, jedoch mit negativem Probenmaterial. Eine rote Linie, die im Kontrollbereich (C) erscheint, bestätigt die Verwendung einer ausreichenden Probenmenge und eine korrekte Testdurchführung.

Externe Qualitätskontrolle

Kontrollen werden im diesem Kit nicht mitgeliefert. Doch gemäß Guter Laborpraxis (GLP) wird die Durchführung positiver/negativer Kontrollen empfohlen.

EINSCHRÄNKUNGEN

Obwohl der WiduMed Influenza A/B 2 Kassettest Influenza-Antigene der Typen A und B zuverlässig nachweist, sind falsche Resultate nicht völlig auszuschließen. Werden zweifelhafte Ergebnisse beobachtet, so sollten weitere klinische Tests durchgeführt werden. Für eine Diagnose müssen alle verfügbaren klinischen Informationen herangezogen und von einem Arzt ausgewertet werden.

Dieser Test bietet nur ein qualitatives Ergebnis, die in der Probe vorhandene Menge an Influenza-Antigenen kann nicht bestimmt werden.

LEISTUNGSKRITERIEN

Die unten aufgeführten Leistungskriterien wurden mit dem Influenza A/B 2 Kassettest mit Polyestertupfern ermittelt. Messungen mit beflockten Tupfern ergaben keinen Hinweis auf Interferenzen mit dem Influenza A/B 2 Test. Weiterhin ergaben Vergleiche eine Erhöhung der Nachweisbarkeit von Influenza A Viren und Influenza B Viren, wenn beflockte Tupfer anstatt Polyestertupfer verwendet werden.

Cut off -Sensitivität

Strain/Stamm	kultiviert	WiduMed Influenza A/B 2 Kassettest – Cut off
Flu-A Texas 1/77-H3N2	Embryonale Hühnereier	20ng/ml
Flu-A New Jersey/8/76/H1N1	Embryonale Hühnereier	100ng/ml
Flu-B Strain, HongKong 5/72	MDCK Zellen	20ng/ml

Die **Nachweisgrenze** des WiduMed Influenza A/B 2 Kassettestes liegt für **Influenza A** bezogen auf H3N2 bei 20 ng/ml und bezogen auf H1N1 bei 100ng/ml. Für **Influenza B** liegt die Nachweisgrenze bei 20 ng/ml.

Sensitivität und Spezifität

Verglichen mit dem Goldstandard (bestätigt durch Kultur):

WiduMed Influenza A Sensitivität: 76,3 % (103/135), WiduMed Influenza A Spezifität: 92 % (138/150),

Relative Sensitivität und Spezifität

Vergleichsstudie zwischen WiduMed Influenza A/B 2 Kassettest und RT-PCR (Taqman):

WiduMed Influenza A Relative Sensitivität: 84,4 %

WiduMed Influenza A Relative Spezifität: 94,7 %

WiduMed Influenza B Relative Sensitivität: 84,3 %

WiduMedInfluenza B Relative Spezifität: 95,5 %

Analytische Sensitivität und Spezifität

Die analytische Sensitivität und Spezifität wurde ermittelt durch Virustitration in embryonalen Hühnereiern.

Viral Strain	Type	Subtype	CEID/Test
Texas 1/77	A	H3N2	2.9×10^3
HongKong/8/68	A	H3N2	6.1×10^1
Shanghai/11	A	H3N2	6.1×10^1
Port Chalmers	A	H3N2	1.25×10^2
New Jersey/8/76	A (Swine)	H1N1	2.5×10^2
NWS/33	A	H1N1	1.24×10^3
Mal/302/54	A	H1N1	6.73×10^3
HongKong/5/72	B	N/A	3.6×10^1
Taiwan	B	N/A	3.6×10^2
California	B	N/A	3.1×10^3
Stockholm	B	N/A	3.6×10^5



Mit dem WiduMed Influenza A/B 2 Kassettentest konnten folgende Virusstämme erkannt werden:

H1N1		H3N2		
H1N1- A/Fin/30/77 E	H1N1- A/Fin/164/91 M	H3N2- A/Fin/65/69 E	H3N2- A/Fin/262/93 M	H3N2- A/Fin/539/97 M
H1N1- A/Fin/98/78 E	H1N1- A/Fin/221/92 M	H3N2- A/Fin/26/76 E	H3N2- A/Fin/364/95 M	H3N2- A/Fin/661/99 M
H1N1- A/Fin/45/87 M	H1N1- A/Fin/432/96 M	H3N2- A/Fin/31/80 E	H3N2- A/Fin/371/95 M	H3N2- A/Panama/2007/99
H1N1- A/Fin/91/89 M	H1N1- A/New Caledonia/20/99	H3N2- A/Fin/189/92 E	H3N2- A/Fin/445/96 M	

Spezifitäts- und Interferenzstudie

Spezifitätsstudien: Influenza-negative bzw. -positive Proben wurden mit verwandten Mikroorganismen und Virusgruppen (Liste unten) aufgestockt. Diese Proben wurden mit dem WiduMed Influenza-A/B (10-fach Bestimmung) getestet. Eine Probe ist als negativ zu bewerten, wenn keine farbige Linie in der T-Region des Testes erscheint und innerhalb von 10 Minuten nur die Kontrolllinie sichtbar wird. Eine Probe ist als positiv zu bewerten, wenn innerhalb von 10 Minuten sowohl die T- als auch die C-Linie erscheint. Zusammenfassung: Alle Influenza-negativen Proben, die mit den Mikroorganismen aus der unten stehenden Tabelle aufgestockt wurden, erbrachten mit dem WiduMed Influenza Test das erwartete negative Ergebnis. Weiterhin ergaben die mit den Mikroorganismen aus der unten stehenden Tabelle aufgestockten Positiv-Proben das erwartete positive Ergebnis.

Liste: Gruppe der Mikroorganismen

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCCä 35056)	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCCä 13883)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCCä 29213 & 25923)
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCCä 12228)
<i>Branhamella catarrhalis</i> (ATCCä 43628)	<i>Neisseria gonorrhoea</i> (ATCCä 9826)	<i>Streptococcus Group B</i> (ATCCä 12386)
<i>Candida albicans</i> (ATCCä 14053)	<i>Neisseria meningitidis, serogroup B</i> (ATCCä 13090)	<i>Streptococcus Group C</i> (ATCCä 12388)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> (ATCCä 9015)	<i>Neisseria sp.</i> (ATCCä 43831)	<i>Streptococcus Group D</i> (ATCCä 12389)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus Group F</i> (ATCCä 12393)
<i>Escherichia coli</i> (ATCCä 25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCCä 27853)	<i>Streptococcus Group G</i> (ATCCä 12394)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Serratia marcescens</i> (ATCCä 8100)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCCä 9163, 6306 & 10015)

Liste: Gruppe der Viren

<i>Adenovirus 5</i> (Ad. 75)	<i>Coxsackievirus A9</i> (Bozek)	<i>Echovirus 6</i> (D'Amori)	<i>Human Rhinovirus 16</i> (11757)	<i>Parainfluenza virus 3</i> (C243)
<i>Adenovirus 7</i> (Gomen)	<i>Coxsackievirus B5</i> (Faulkner)	<i>Herpes simplex virus 1</i>	<i>Measles</i> (Edmonston)	<i>Respiratory Syncytial virus</i>
<i>Adenovirus 10</i> (J.J.)	<i>Cytomegalovirus</i> (Towne)	<i>Herpes simplex virus 2</i>	<i>Mumps</i> (Enders)	<i>Respiratory Syncytial virus (A-2)</i>
<i>Adenovirus 18</i> (D.C.)	<i>Echovirus 2</i> (Cornelis)	<i>Human Rhinovirus 2</i> (HGP)	<i>Parainfluenza virus 1</i> (Sendai)	<i>Rubella</i> (RA 27/3)
<i>Coronavirus OC43</i>	<i>Echovirus 3</i> (Morrisey)	<i>Human Rhinovirus 14</i> (1059)	<i>Parainfluenza virus 2</i> (CA/Greer)	<i>Varicella-Zoster</i> (Ellen)

Interferenzstudien: In der Interferenzstudie wurden klinisch bestätigte Influenza A/B Negativ- und Positivproben mit folgenden Substanzen versetzt und getestet:

Acetaminophen, 20 mg/dl; Acetylsalicylsäure, Ascorbinsäure, 20 mg/dl; Atropine, 20 mg/dl; Bilirubin, 60 mg/dl; Coffein, 20 mg/dl; Kreatinin, 20 mg/dl; Gentesic Säure, 20 mg/dl; Glucose, 2000 mg/dl; Hämoglobin, 500 mg/dl; Ketone, 40 mg/dl; Mestranol, 3 mg/dl; Nitrite, 20 mg/dl; Penicillin, 40.000 U/dl; Natrium- Heparin, 3 mg/dl; Lithium Heparin, 3 mg/dl.

Keine der oben getesteten Substanzen zeigten Interferenzen mit den klinisch bestätigten Negativ- und Positiv-Proben.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde mit 3 verschiedenen Lots überprüft. Verwendet wurden negative Proben, die 1:4, 1:3 und 1:2 verdünnt wurden sowie unverdünnte positive Kontrollen (200 Tests pro Lot). Die Proben wurden zur gleichen Zeit am gleichen Tag, mit je 2 Tests aus 3 verschiedenen Lots pro Tag, über 20 Tage getestet.

Schlussfolgerung: Tests aus 3 verschiedenen Lots wurden am selben Tag getestet. Tests aus 2 Lots wurden 20 Tage lang an jedem Tag mit verschiedenen Proben überprüft. Somit wurden Vergleichsergebnisse innerhalb der einzelnen Tage, innerhalb der verschiedenen Lots und innerhalb eines Tages produziert. Alle Ergebnisse sind reproduzierbar und konsistent.

LITERATUR

- Murphy, B.R., and R.G. Webster, 1996, Orthomyxoviruses, pp. 1397–1445. In: Fields, Virology, 3rd edition, B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley, et al. (eds.), Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th Edition. U.S.Department of Health and Human Services, CDC, NIH, Washington, DC (1999).
- CDC website: <http://www.cdc.gov/flu/>
- Bright RA, Medina MJ, Xu X, Perez-Orozco G, Wallis TR, Davis XM, Povinelli L, Cox NJ, Klimov AI (2005). Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: A cause for concern. *Lancet* 366 (9492): 1175–81.
- Hope-Simpson RE (1981). The role of season in the epidemiology of influenza. *J Hyg (Lond)* 86 (1), 35-47. PMID 7462597
- Yohannes K, Roche P, Hampson A, Miller M, Spencer J (2004). Annual report of the National Influenza Surveillance Scheme, 2003. *Commun Dis Intell* 28 (2), 160-8. PMID 15460951
- Zakay-Rones Z, Varsano N, Zlotnik M, Manor O, Regev L, Schlesinger M, Mumcuoglu M. Inhibition of several strains of influenza virus in vitro and reduction of symptoms by an elderberry extract (*Sambucus nigra* L.) during an outbreak of influenza B Panama. *J Altern Complement Med*. 1995 Winter;1(4):361-9. PMID 9395631
- Influenza Schnelltestliste www.rki.de

Rev: 01.09.2009

SYMBOLERLÄUTERUNGEN

	Nur für den in-vitro diagnostischen Gebrauch
	Chargennummer
	Nur einmal benutzen
	Haltbarkeit
	Lagertemperatur
	Gebrauchsanweisung beachten
	Hersteller

