

## Revisions

SO 0191-5

Rev from	Rev to	ECO #
2010/06	2010/07	5355-10

**Notes:**

1. BD Cat. Number 256050
2. Blank (Sheet) Size : Length: 8.5"      Width: 11"  
 Number of Pages: 52      Number of Sheets: 13  
 Page Size: Length 8.5"      Width 5.5"      Final Folded Size: 8.5" x 5.5"
3. Style (see illustrations below): # 5



4. See Specification Control Number 8010589 for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides  Yes       No  
 No. of Colors: 2      PMS# 2755 Blue and PMS# 2718 Blue
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	<b>Becton, Dickinson and Company</b> 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: 8010589		Category and Description Package Insert, Directigen EZ Flu A & B	Sheet: 1 of 53 <hr/> Scale: N/A	A



# Directigen™ EZ Flu A+B

CE 8010589  
2010/07

For the Differentiated, Direct Detection  
of Influenza A and B Viral Antigens

Pour la détection directe, différenciée des  
antigènes viraux d'influenza A et B

Für den differenzierten, direkten Nachweis von  
Virusantigenen gegen Influenza A und B

Per la rilevazione diretta differenziata degli  
antigeni dei virus influenzali A e B

Para una detección directa y diferenciada de los  
antígenos virales de influenza A y B

English: pages 2 – 11      Italiano: pagine 31 – 40  
Français : pages 12 – 21      Español: páginas 40 – 50  
Deutsch: Seiten 21 – 31

Pokyny vám poskytnú miestni zástupcov spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкций свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзіңіздің жергілікті BD өкіліне жүгініп нұсқау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

30

Determinations  
Déterminations  
Bestimmungen  
Determinazioni  
Determinaciones

# BD Directigen™ EZ Flu A+B

## For the Differentiated, Direct Detection of Influenza A and B Viral Antigens

8010589  
2010/07

### INTENDED USE

The **Directigen™ EZ Flu A+B** test is a rapid chromatographic immunoassay for the direct and qualitative detection of influenza A and B viral antigens from nasopharyngeal washes/aspirates, nasopharyngeal swabs and throat swabs of symptomatic patients. The **Directigen EZ Flu A+B** test is a differentiated test, such that influenza A viral antigens can be distinguished from influenza B viral antigens from a single processed sample using a single device. The test is to be used as an aid in the diagnosis of influenza A and B viral infections. All negative test results should be confirmed by cell culture because negative results do not preclude influenza virus infection and should not be used as the sole basis for treatment or other management decisions.

Performance characteristics for Influenza B using nasopharyngeal swabs (NPS) were established primarily with retrospective, frozen specimens. Users may wish to establish the sensitivity of this test for Influenza B using fresh nasopharyngeal swab specimens.

### SUMMARY AND EXPLANATION

Influenza illness classically presents with sudden onset of fever, chills, headache, myalgias, and a non-productive cough. Epidemics of influenza typically occur during winter months with estimated 114,000 hospitalizations<sup>1</sup> and 36,000 deaths<sup>2</sup> per year in the U.S. Influenza viruses can also cause pandemics, during which rates of illness and death from influenza-related complications can increase dramatically.

Patients who present with suspected influenza may benefit from treatment with an antiviral agent especially if given within the first 48 h of onset of illness. It is important to rapidly distinguish influenza A from influenza B in order to allow physicians a choice in selective antiviral intervention. Moreover, it is important to determine if influenza A or B is causing symptomatic disease in a particular institution (e.g., nursing home) or community, so that appropriate preventative intervention can be taken for susceptible individuals. It is therefore important to not only rapidly determine whether influenza is present, but also which type of influenza virus is present.

Diagnostic tests available for influenza include rapid immunoassay, immunofluorescence assay, polymerase chain reaction (PCR), serology, and viral culture.<sup>3-10</sup> Immunofluorescence assays entail staining of specimens immobilized on microscope slides using fluorescent-labeled antibodies for observation by fluorescence microscopy.<sup>5,11,12</sup> Culture methods employ initial viral isolation in cell culture, followed by hemadsorption inhibition, immunofluorescence, or neutralization assays to confirm the presence of the influenza virus.<sup>12-14</sup>

The **Directigen EZ Flu A+B** test is a chromatographic immunoassay to detect influenza A or B antigens from respiratory specimens of symptomatic patients with time to results of 15 min.

The speed and simplified workflow of the **Directigen EZ Flu A+B** test make it applicable as a "STAT" influenza A and B antigen detection test providing relevant information to assist with the diagnosis of influenza. The use of the **Directigen EZ Flu A+B** test to differentiate Flu A from Flu B infection can provide the opportunity for greater selectivity of antiviral intervention.

### PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **Directigen EZ Flu A+B** test is a chromatographic assay to qualitatively detect influenza A and B viral antigens in samples processed from respiratory specimens. When specimens are processed and added to the test device, influenza A or B viral antigens bind to anti-influenza antibodies conjugated to visualizing particles in the corresponding A and B test strips. The antigen-conjugate complex migrates across the test strip to the reaction area and is captured by the line of antibody on the membrane. A positive result for influenza A is visualized as a reddish purple line at the Test "T" position and the Control "C" position in the **Directigen EZ Flu A** read window. A positive result for influenza B is visualized as a reddish purple line at the Test "T" position and the Control "C" position in the **Directigen EZ Flu B** read window.

### REAGENTS

The following components are included in the **Directigen EZ Flu A+B** kit:

<b>BD™ Flu A+B Devices</b>	30 Devices	Foil pouched device containing two reactive strips. Each strip has a test line of monoclonal antibody specific to either Flu A or Flu B influenza viral antigen and a control line of anti-species antibody.
Reagent E	4.7 mL	Detergent, with 0.2% sodium azide (preservative).
Flu A+/B- Control Swab	1 each	Flu A Positive and Flu B Negative Control, influenza A antigen (inactive recombinant nucleoprotein) with < 0.1% sodium azide (preservative).
Flu B+/A- Control Swab	1 each	Flu B Positive and Flu A Negative Control, influenza B antigen (inactive recombinant nucleoprotein) with < 0.1% sodium azide (preservative).
<b>DispensTube™ Tubes</b>	30	Tubes for specimen processing and sample delivery into devices.
<b>DispensTube Tips</b>	30	Tips to filter sample when delivered into devices.

**Materials Required But Not Provided:** Pipette (capable of delivering 300 µL), timer, vortex mixer, transport media (see Specimen Collection and Handling), normal saline and swabs.

## Warnings and Precautions:

### For *in vitro* Diagnostic Use.

1. If infection with a novel influenza A virus is suspected based on current clinical and epidemiological screening criteria recommended by public health authorities, specimens should be collected with appropriate infection control precautions for novel virulent influenza viruses and sent to state or local health departments for testing. Viral culture should not be attempted in these cases unless a BSL 3+ facility is available to receive and culture specimens.
2. Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses, Human Immunodeficiency Virus and novel influenza viruses, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"<sup>15-18</sup> and institutional guidelines should be followed in handling, storing and disposing of all specimens and all items contaminated with blood and other body fluids.
3. Reagents contain sodium azide, which is harmful if inhaled, swallowed or in contact with skin. Contact with acids liberates very toxic gas. If there is contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.
4. Do not use kit components beyond the expiration date.
5. Do not mix reagents from different kit lot numbers.
6. Do not reuse the device.
7. Do not use the kit if the Controls do not yield appropriate results.

**Storage and Handling:** Kits may be stored at 2–25°C. DO NOT FREEZE. Reagents and devices must be at room temperature (15–25°C) when used for testing.

## SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

### Specimen Transport and Storage:

Freshly collected specimens should be processed immediately. If necessary, specimens (other than throat swabs) may be stored in suitable transport medium and maintained at 2–8°C for up to 72 h or at –20°C for up to seven days.

It is essential that correct specimen collection and preparation methods be followed. Do not centrifuge specimens prior to use, as the removal of cellular material may adversely affect test sensitivity. Specimens obtained early in the course of the illness will contain the highest viral titers.

**Transport Media:** The following transport media have been tested and found to be compatible with the **Directigen EZ Flu A+B Test**:

Amies Medium (liquid)	PBS plus 0.5% BSA
Bartel ViraTrans™ Medium	PBS plus 0.5% gelatin
Earle's Minimal Essential Medium (EMEM)	Phosphate Buffered Saline (PBS)
EMEM plus 0.5% BSA	Starplex Multitrans™
EMEM plus 1% BSA	Sucrose Phosphate (2-SP)
Hanks Basal Salt Solution	<b>Trypticase™</b> Soy Broth
M4 Medium	<b>Trypticase</b> Soy Broth + 0.5% gelatin
M4 RT Medium	<b>Trypticase</b> Soy Broth + 0.5% BSA
M5 Medium	<b>BD™</b> Universal Viral Transport Medium
Modified Stuart's Medium (liquid)	Veal Infusion Broth (VIB)
Normal Saline*	VIB plus 0.5% BSA

\*Frozen storage of specimens collected in normal saline is not recommended for testing with the **Directigen EZ Flu A+B Test**.

Other transport media may be utilized if an appropriate qualification exercise is performed.

**NOTE:** EMEM media containing lactalbumin (i.e., 0.5% or 1.0%) or any other transport media containing lactalbumin are not compatible with the **Directigen EZ Flu A+B Test**.

**Specimen Collection and Preparation:** Acceptable specimens for testing with the **Directigen EZ Flu A+B test** include nasopharyngeal washes/aspirates, nasopharyngeal swabs and throat swabs. Inadequate specimen collection, improper specimen handling and/or transport may yield a false negative result; therefore, training in specimen collection is highly recommended due to the importance of specimen quality to accurate test results.

### Procedure for Nasopharyngeal Wash/Aspirate and Nasopharyngeal Swab Specimens:

1. For NP washes/aspirates, sample volumes of 1 to 3 mL are recommended. If transport medium is used, minimal dilution of specimen is preferred.
2. Excessive wash volumes should be avoided as they may result in decreased test sensitivity.
3. For NP swabs, place swabs in 1 to 3 mL transport medium after collection.
4. Process specimen as described in "Test Procedure."

**Procedure for Throat Swab Specimens** (polyurethane [foam] swabs are recommended - See "Availability" Section):

1. Throat swab specimens must be processed without transport medium as described in "Test Procedure."

## PROCEDURE

### Test Procedure

#### NOTES:

- Reagents, specimens and devices must be at room temperature (15–25°C) for testing.

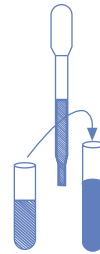
- Thoroughly mix all specimens prior to removal of an aliquot for processing. **Do not centrifuge specimens.**
- **DispensTube** tubes and reagent bottles must be held vertically (approximately one inch above the **Directigen EZ Flu A+B** device sample well or **DispensTube** tube), while gently dispensing one drop at a time.
  1. Remove the **Directigen EZ Flu A+B** device from its foil pouch immediately before testing.
  2. Label one device and one **DispensTube** tube for each control and specimen to be tested.
  3. Place the labeled **DispensTube** tube(s) in the designated area of the workstation or rack.
  4. Gently mix Reagent E. Dispense 4 drops into the **DispensTube** tube. Hold reagent bottle vertically (approximately one inch above the **DispensTube** tube) while dispensing drops.



5. Process specimens or controls as directed below:

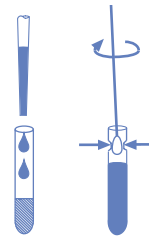
**a. For nasopharyngeal wash/aspirate specimens and nasopharyngeal swab specimens in transport media:**

1. Vortex or thoroughly mix specimen. **Do not centrifuge.**
2. Pipette 300  $\mu$ L of specimen into **DispensTube** tube (containing Reagent E).



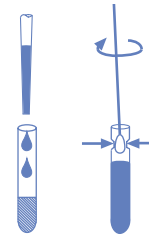
**b. For throat swab specimens:**

1. Add 300  $\mu$ L of normal saline, to the **DispensTube** tube (containing Reagent E).
2. Insert swab and express by rotating swab 6-8 times while pinching tube.
3. Remove swab while pinching tube to remove excess fluid from the swab tip.



**c. For Kit Controls:**

1. Add 300  $\mu$ L of normal saline, to the **DispensTube** tube (containing Reagent E).
2. Insert control swab and express by rotating swab 6-8 times while pinching tube.
3. Remove control swab while pinching tube to remove excess fluid from the swab tip.



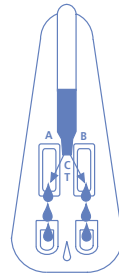
6. Insert a **DispensTube Tip** into the **DispensTube** tube containing the processed specimen or control.

**Note: Do not use tips from other Directigen products.**



7. Vortex or mix thoroughly.
8. Invert the **DispensTube** tube and, holding the tube on the upper half away from the tip, gently squeeze three (3) drops of the processed specimen into the Flu A sample well and three (3) drops into the Flu B sample well of the appropriately labeled **Directigen EZ Flu A+B** device. To assure proper delivery, **DispensTube** tubes must be held vertically (approximately one inch from the **BD Flu A+B** device sample well), while gently dispensing one drop at a time, in quick succession.

**Note: Squeezing the tube close to the tip may result in ejection of the tip and leakage of the contents from the tube.**



9. After sample addition, read result at 15 min and record test result.

#### Quality Control:

Quality control requirements must be performed in accordance with local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures.

Each **Directigen EZ Flu A+B** device contains both positive and negative internal/procedural controls:

- The appearance of a reddish purple control line in the Flu A and/or Flu B read windows at the Control "C" position provides an internal positive control that validates the proper reagent function and assures that the correct test procedure was followed.
- The membrane area surrounding the Flu A and/or Flu B test and control lines is the internal negative control for the device. A background area that is white to light pink indicates that the test is performing correctly.

Each **Directigen EZ Flu A+B** kit contains swab Control A+/B- and B+/A-:

These controls are tested in the same manner as patient specimens and provide a means of external quality control. At a minimum, these controls should be run as a quality control procedure for each new kit lot or shipment received. If desired, appropriate reagent performance and proper testing technique may also be determined by using specimens qualified as positive or negative for the influenza A or B virus.

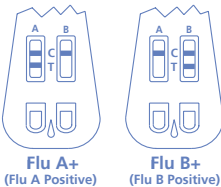
The formation of a reddish purple line on the membrane in the Flu A read window at the Test (T) position and Control (C) position when the A+/B- Control is tested, and in the Flu B read window at the Test (T) position and Control (C) position when the B+/A- Control is tested, indicates that the influenza antigen binding property of the test strip is functional.

The formation of a reddish purple control line at the Control (C) position in the Flu B read window and the absence of a reddish purple test line at the Test (T) position when the A+/B- Control is employed is an appropriate Flu B negative control result that indicates proper reagent function and that the proper test procedure was followed. Similarly, the formation of a reddish purple control line at the Control (C) position on the Flu A read window and the absence of a reddish purple test line at the Test (T) position when the B+/A- Control is tested indicates an appropriate Flu A negative control result.

If the kit controls do not perform as expected, do not report patient results. Contact your local BD representative or Technical Services for assistance.

#### INTERPRETATION OF RESULTS

**NOTE:** The control line intensity may vary between the Flu A and Flu B read windows. Variability in control line intensity is acceptable. The background area should be white to light pink and may vary in intensity between the Flu A and Flu B read windows.

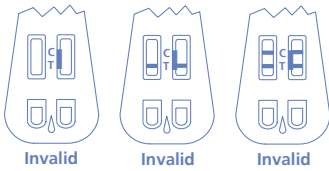


**Positive Test for Flu A (influenza A antigen present)** - A reddish purple line appears at the Test "T" position and the Control "C" position in the **Directigen EZ Flu A** read window. This result does not identify any specific influenza A virus subtype. A reddish purple line should also appear at the Control "C" position in the **Directigen EZ Flu B** read window. This indicates influenza A antigen was detected in the specimen. The background area should be white to light pink.

**Positive Test for Flu B (influenza B antigen present)** - A reddish purple line appears at the Test "T" position and the Control "C" position in the **Directigen EZ Flu B** read window. A reddish purple line should also appear at the Control "C" position in the **Directigen EZ Flu A** read window. This indicates influenza B antigen was detected in the specimen. The background area should be white to light pink.



**Negative Test for Flu A or Flu B (no antigen detected)** - No reddish purple line visible at the Test "T" position in either the Flu A or the Flu B read window indicates that influenza A antigen, or influenza B antigen, or both, were not detected in the specimen. These results do not exclude influenza viral infection. A reddish purple line at the Control "C" position in both read windows indicates proper performance of test procedure and reagents. The background area should be white to light pink.



**Invalid Test** - The test is invalid either for Flu A, or Flu B, or for both Flu A and Flu B, if no reddish purple line is visible next to the Control "C" position in the respective read window(s). The test is also invalid if a reddish purple line appears at the Test "T" position in both the Flu A and Flu B read windows for the same specimen. If invalid, the test must be repeated.

## REPORTING OF RESULTS

- Positive Test** Positive for the presence of influenza A or influenza B antigen. A positive result may occur in the absence of viable virus.
- Negative Test** Negative for the presence of influenza A or influenza B antigen. Infection due to influenza cannot be ruled-out because the antigen present in the sample may be below the detection limit of the test. Culture confirmation of negative samples is recommended.
- Invalid Test** Test result is inconclusive. Do not report results.

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- The etiology of respiratory infection caused by microorganisms other than influenza A or B virus will not be established with this test. **Directigen EZ Flu A+B** is capable of detecting both viable and non-viable influenza particles. The **Directigen EZ Flu A+B** test performance depends on antigen load and may not correlate with cell culture performed on the same specimen.
- Low levels of virus shedding may yield a false-negative result; therefore, a negative test result does not eliminate the possibility of an influenza A or influenza B, or both influenza A and B infection.
- The validity of **Directigen EZ Flu A+B** has not been proven for identification or confirmation of cell culture isolates.
- Performance characteristics for influenza A were established when influenza A/H3 and A/H1 were the predominant influenza A viruses in circulation. When other influenza A viruses are emerging, performance characteristics may vary.
- Children tend to shed virus for longer periods of time than adults, which may result in differences in sensitivity between adults and children.
- Positive and negative predictive values are highly dependent on prevalence. False positive test results are more likely during periods of low influenza activity when prevalence is moderate to low.

## EXPECTED VALUES

The rate of positivity observed in respiratory testing will vary depending on the method of specimen collection, handling/transport system employed, detection method utilized, the time of year, age of the patient, geographic location, and most importantly, local disease prevalence. The overall prevalence observed with culture during the 2003-2004 clinical study was 24.3% for influenza A and 3.8% for influenza B. During the 2004-2005 clinical study, the overall prevalence observed with culture was 26.0% for influenza A and 31.2% for influenza B. During the 2006 clinical study, the overall prevalence observed with culture was 33.9% for influenza A and 0.2% for influenza B.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics for the **Directigen EZ Flu A+B** test were established in multi-center studies conducted at five trial sites during the 2003-2004 respiratory season, 13 trial sites during the 2004-2005 respiratory season and 2 trial sites during the 2006 respiratory season. The clinical centers were located in geographically diverse areas within the United States, Japan, Hong Kong and New Zealand.

A total of 1191 prospective specimens and 59 retrospective specimens were evaluated using the **Directigen EZ Flu A+B** test and cell culture. These specimens consisted of nasopharyngeal washes, nasopharyngeal aspirates, nasopharyngeal swabs and throat swabs from patients suspected of having influenza.

### Clinical Performance:

The performance characteristics for **Directigen EZ Flu A+B** test as compared to cell culture for each specimen type are presented in Table 1 through Table 6.

**Table 1: Summary of the Performance of the Directigen EZ Flu A+B Test Compared to Culture for all Specimen Types - Influenza A Combined 2003-2004, 2004-2005 and 2006 Respiratory Seasons**

Specimen Type	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Cell Culture	
		P	N
Nasopharyngeal washes/aspirates	P	115	2
	N	19	330
Sensitivity: 86% (95% CI: 79% - 91%) Specificity: 99% (95% CI: 98% - 100%)			
Throat swabs	P	43	29
	N	13	184
Sensitivity: 77% (95% CI: 64% - 87%) Specificity: 86% (95% CI: 81% - 91%)			
Nasopharyngeal swabs	P	146	20
	N	15	275
Sensitivity: 91% (95% CI: 85% - 95%) Specificity: 93% (95% CI: 90% - 96%)			

**Table 2: Summary of the Performance of the Directigen EZ Flu A+B Test Compared to Culture for all Specimen Types - Influenza B Combined 2003-2004, 2004-2005 and 2006 Respiratory Seasons**

Specimen Type	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Cell Culture	
		P	N
Nasopharyngeal washes/aspirates	P	57	1
	N	14	394
Sensitivity: 80% (95% CI: 69% - 89%) Specificity: 100% (95% CI: 99% - 100%)			
Throat swabs	P	38	3
	N	17	211
Sensitivity: 69% (95% CI: 55% - 81%) Specificity: 99% (95% CI: 96% - 100%)			
Nasopharyngeal swabs	P	1	0
	N	0	455
Sensitivity: 100% (95% CI: 3% - 100%) Specificity: 100% (95% CI: 99% - 100%)			

**Table 3: Summary of the Performance of the Directigen EZ Flu A+B Test Compared to Culture for Retrospective Nasopharyngeal Swabs - Influenza B from 2005 Respiratory Season**

Specimen Type	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Cell Culture	
		P	N
Nasopharyngeal swabs	P	32	0
	N	11	16
Positive agreement: 74% (95% CI: 59% - 87%) Negative agreement: 100% (95% CI: 79% - 100%)			

**Table 4: Summary of the Performance of the Directigen EZ Flu A+B Test Compared to Culture for all Specimen Types by Population - Influenza A Combined 2003-2004, 2004-2005 and 2006 Respiratory Seasons**

Specimen Type	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Cell Culture			
		Pediatric (≤ 21 years)		Adult (> 21 years)	
		P	N	P	N
Nasopharyngeal washes/aspirates	P	94	2	21	0
	N	11	294	8	36
Sensitivity: <b>Pediatric:</b> 90% (95% CI: 82% - 95%); <b>Adult:</b> 72% (95% CI: 53% - 87%) Specificity: <b>Pediatric:</b> 99% (95% CI: 98% - 100%); <b>Adult:</b> 100% (95% CI: 90% - 100%)					
Throat swabs	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Pediatric (≤ 21 years)		Adult (> 21 years)	
		P	N	P	N
	P	38	23	5	6
	N	10	151	3	33
Sensitivity: <b>Pediatric:</b> 79% (95% CI: 65% - 90%); <b>Adult:</b> 63% (95% CI: 24% - 91%) Specificity: <b>Pediatric:</b> 87% (95% CI: 81% - 91%); <b>Adult:</b> 85% (95% CI: 69% - 94%)					
Nasopharyngeal swabs	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Pediatric (≤ 21 years)		Adult (> 21 years)	
		P	N	P	N
	P	62	11	84	9
	N	6	84	9	191
Sensitivity: <b>Pediatric:</b> 91% (95% CI: 82% - 97%); <b>Adult:</b> 90% (95% CI: 82% - 96%) Specificity: <b>Pediatric:</b> 88% (95% CI: 80% - 94%); <b>Adult:</b> 96% (95% CI: 92% - 98%)					

**Table 5: Summary of the Performance of the Directigen EZ Flu A+B Test Compared to Culture for all Specimen Types by Population - Influenza B Combined 2003-2004, 2004-2005 and 2006 Respiratory Seasons**

Specimen Type	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Cell Culture			
		Pediatric (≤ 21 years)		Adult (> 21 years)	
		P	N	P	N
Nasopharyngeal washes/aspirates	P	49	1	8	0
	N	13	338	1	56
Sensitivity: <b>Pediatric:</b> 79% (95% CI: 67% - 88%); <b>Adult:</b> 89% (95% CI: 52% - 100%) Specificity: <b>Pediatric:</b> 100% (95% CI: 98% - 100%); <b>Adult:</b> 100% (95% CI: 94% - 100%)					
Throat swabs	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Pediatric (≤ 21 years)		Adult (> 21 years)	
		P	N	P	N
		P	19	1	19
	N	12	190	5	21
Sensitivity: <b>Pediatric:</b> 61% (95% CI: 42% - 78%); <b>Adult:</b> 79% (95% CI: 58% - 93%) Specificity: <b>Pediatric:</b> 99% (95% CI: 97% - 100%); <b>Adult:</b> 91% (95% CI: 72% - 99%)					
Nasopharyngeal swabs	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Pediatric (≤ 21 years)		Adult (> 21 years)	
		P	N	P	N
		P	0	0	1
	N	0	163	0	292
Sensitivity: <b>Pediatric:</b> No Sensitivity Calculation; <b>Adult:</b> 100% (95% CI: 3% - 100%) Specificity: <b>Pediatric:</b> 100% (95% CI: 98% - 100%); <b>Adult:</b> 100% (95% CI: 99% - 100%)					

**Table 6: Summary of the Performance of the Directigen EZ Flu A+B Test Compared to Culture for Retrospective Nasopharyngeal Swabs by Population - Influenza B from 2005 Respiratory Season**

Specimen Type	Directigen™ EZ Flu A+B Test	Cell Culture			
		Pediatric (≤ 21 years)		Adult (> 21 years)	
		P	N	P	N
Nasopharyngeal swabs	P	20	0	12	0
	N	6	10	5	6
Positive agreement: <b>Pediatric:</b> 77% (95% CI: 56% - 91%); <b>Adult:</b> 71% (95% CI: 44% - 90%) Negative agreement: <b>Pediatric:</b> 100% (95% CI: 69% - 100%); <b>Adult:</b> 100% (95% CI: 54% - 100%)					

**Reproducibility:** The reproducibility of the Directigen EZ Flu A+B test was evaluated at four sites. The reproducibility panel was composed of 20 simulated influenza samples. These samples included low Flu A or Flu B positive samples (near the assay limit of detection), moderate Flu A or Flu B positive samples and negative samples. The overall reproducibility for the Directigen EZ Flu A+B test was 99.6%.

#### Analytical Studies

##### Analytical Sensitivity (Limit of Detection)

The limit of detection (LOD) for the Directigen EZ Flu A+B test was established for a total of 17 influenza strains; 11 influenza A and six influenza B.

Type	Influenza Viral Strain	LOD (CEID <sub>50</sub> /mL*)	LOD (TCID <sub>50</sub> /mL**)
A	A/PR/8/34 (H1N1)	1.75 X 10 <sup>4</sup>	-
A	A/FM/11/47 (H1N1)	1.98 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/NWS/33 (H1N1)	1.00 X 10 <sup>4</sup>	-
A	A1/Denver/1/57 (H1N1)	5.56 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/New Jersey/8/76 (H1N1)	4.45 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	1.00 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	2.78 X 10 <sup>2</sup>	-
A	A2/Aichi2/68 (H3N2)	3.50 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/Victoria/3/75 (H3N2)	2.78 X 10 <sup>4</sup>	-
A	A/California/04/09 (H1N1)	-	5.37 X 10 <sup>2</sup>
A	A/California/07/09 (H1N1)	-	1.86 X 10 <sup>3</sup>
B	B/Lee/40	6.95 X 10 <sup>5</sup>	-
B	B/Allen/45	2.00 X 10 <sup>3</sup>	-
B	B/GL/1739/54	5.56 X 10 <sup>3</sup>	-
B	B/Taiwan/2/62	3.50 X 10 <sup>2</sup>	-
B	B/Maryland/1/59	2.23 X 10 <sup>4</sup>	-
B	B/Hong Kong/5/72	2.23 X 10 <sup>4</sup>	-

\* CEID<sub>50</sub>/mL = Chick Embryo Infectious Dose at which 50% of the embryos perish

\*\*TCID<sub>50</sub>/mL = 50% Tissue Culture Infectious Dose

Although this test has been shown to detect the 2009 H1N1 virus cultured from a positive human respiratory specimen, the performance characteristics of this device with clinical specimens that are positive for the 2009 H1N1 influenza virus have not been established. BD **Directigen** EZ Flu A+B can distinguish between influenza A and B viruses, but it can not differentiate influenza subtypes.

#### Analytical Specificity (Cross Reactivity)

The **Directigen** EZ Flu A+B test was evaluated with a total of 98 microorganisms. The 51 bacteria and two yeasts were tested at a concentration of ~10<sup>8</sup> CFU/mL (CFU - Colony Forming Units). *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma orale* were tested at concentrations of > 10<sup>6</sup> and >10<sup>7</sup> CCU/mL (CCU - Color Changing Units), respectively. The three mycobacteria strains were inoculated at 10<sup>7</sup> CFU/mL and *Chlamydia trachomatis* LGVII was tested at 2.5 X 10<sup>8</sup> EB/mL (EB = elementary bodies). The 39 viruses tested were evaluated at concentrations of 10<sup>4</sup> to 10<sup>9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (TCID<sub>50</sub> - Tissue Culture Infectious Dose at which 50% of the cells are lysed) or 10<sup>4</sup> to 10<sup>8</sup> CEID<sub>50</sub>/mL (CEID<sub>50</sub> - Chick Embryo Infectious Dose at which 50% of the chick embryos are infected). All microorganisms (other than influenza viruses) resulted in negative Flu A and Flu B test results. The influenza A viruses tested (n = 2) resulted in Flu A positive and Flu B negative test results. The influenza B viruses tested (n = 6) resulted in Flu B positive and Flu A negative test results.

<i>Acinetobacter baumannii</i> (calcoaceticus)	<i>Neisseria meningitidis</i>	Coxsackievirus Type A9 (Griggs)
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Coxsackievirus Type A9 (P.B. Bozek)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Coxsackievirus Type B5 (Faulkner)
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Coxsackievirus Type B6 (Schmitt)
<i>Candida albicans</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Coxsackievirus Type A21 (Kuykendall)
<i>Candida glabrata</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	Cytomegalovirus (AD-169)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Prevotella oralis</i>	Echovirus Type 2 (Cornelis)
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Proteus mirabilis</i>	Echovirus Type 3 (Morrisey)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	Echovirus Type 6 (D'Amori)
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HSV Type 1 (HF)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	HSV Type 2 (MS)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	sub <i>minnesota</i>	Influenza A/PR/8/34 (H1N1)
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	Influenza A/Victoria/3/75 (H3N2)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Influenza B/Hong Kong/5/72
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> -Cowan 1	Influenza B /Lee/40
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II group D	Influenza B/Allen/45
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Influenza B/GL/1739/54
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	Influenza B/Maryland/1/59
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	Influenza B/Taiwan/2/62
<i>Kingella kingae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Measles virus (Edmonston)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> group A	Mumps virus (Enders)
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	Parainfluenza Type 1 (Sendia/52)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. group B	Parainfluenza Type 2 (Greer)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. group C	Parainfluenza Type 3 (C243)
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus</i> sp. group F	Rhinovirus Type 1A (2060)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus</i> sp. group G	Rhinovirus Type 2 (HGP)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>	Rhinovirus Type 13 (353)
<i>Mycobacterium avium</i>	Adenovirus, Type 3 (GB)	Rhinovirus Type 15 (1734)
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Adenovirus, Type 5 (Adenoid 75)	Rhinovirus Type 16 (11757)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Adenovirus, Type 7 (Gomen)	Rhinovirus Type 37 (151-1)
<i>Mycoplasma orale</i>	Adenovirus, Type 10 (J.J.)	RSV Type A (Long)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adenovirus, Type 18 (D. C.)	RSV Type B (Wash/18537/62)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Coronavirus (229E)	VZV (Ellen)

## Strain Reactivity with Influenza A and B viruses

The **Directigen EZ Flu A+B** test was evaluated using a panel of 39 influenza strains. All known hemagglutinin (15) and neuraminidase (9) subtypes of influenza A were represented in this panel. All of the human and animal influenza A strains showed positive Flu A test results and negative Flu B test results. Conversely, all of the influenza B strains showed positive Flu B test results and negative Flu A test results.

Influenza Virus (Human Strain)	Viral Type	Influenza Virus (Animal Strain)	Viral Type
A/NWS/33	A (H1N1)	A/Turkey/Kansas/4880/80	A (H1N1)
A/PR/8/34	A (H1N1)	A/Mallard/New York/6750/78	A (H2N2)
A1/FM/1/47	A (H1N1)	A/Turkey/England/69	A (H3N2)
A1/Denver/1/57	A (H1N1)	A/Chicken/Alabama/75	A (H4N8)
A/New Jersey/8/76 (Hsw N1)	A (H1N1)	A/Turkey/Wisconsin/68	A (H5N9)
A/Port Chalmers/1/73	A (H3N2)	A/Turkey/Canada/63	A (H6N8)
A/Victoria/3/75	A (H3N2)	A/Turkey/Oregon/71	A (H7N3)
A/Vietnam/3028/04	A (H5N1)	A/Turkey/Ontario/6118/67	A (H8N4)
A/Thailand/MK2/04	A (H5N1)	A/Turkey/Wisconsin/66	A (H9N2)
A/Hong Kong/486/97	A (H5N1)	A/Chicken/Germany/N/49	A (H10N7)
A/California/07/2004	A (H3N2)	A/Duck/Memphis/546/74	A (H11N9)
A/California/04/09	A (H1N1)	A/Duck/Alberta/60/76	A (H12N5)
A/California/07/09	A (H1N1)	A/Gull/MD/704/77	A (H13N6)
B/Lee/40	B	A/Mallard/Gurjev/263/82	A (H14N5)
B/Allen/45	B	A/Shearwater/WA/2576/79	A (H15N6)
B/GL/1739/54	B		
B/Maryland/1/59	B		
B/Taiwan/2/62	B		
B/Mass/3/66	B		
B/Hong Kong/5/72	B		
B/Victoria/504/00	B		
B/Tokyo/53/99	B		
B/Quingdao/102/91	B		
B/Leningrad/86/93	B		

**NOTE:** Performance characteristics for detecting influenza A virus from human specimens when non-A/H3 and non-A/H1 influenza A virus subtypes are emerging as human pathogens have not been established.

Although this test has been shown to detect the 2009 H1N1 virus cultured from a positive human respiratory specimen, the performance characteristics of this device with clinical specimens that are positive for the 2009 H1N1 influenza virus have not been established. **BD Directigen EZ Flu A+B** can distinguish between influenza A and B viruses, but it can not differentiate influenza subtypes.

### Interfering Substances

Various substances were evaluated with the **Directigen EZ Flu A+B** test. These substances included whole blood (2%) and various medications. No interference was noted with this assay for any of the substances tested.

### Medications Evaluated

Three over the counter mouthwashes at 25%	Pseudoephedrine HCl (20 mg/mL)
Three OTC throat drops at 25%	Guaiaicol Glyceryl Ether (20 mg/mL)
Three OTC nasal sprays at 10%	Ibuprofen (10 mg/mL)
4-Acetamidophenol (10 mg/mL)	Oxymetazoline (0.05 mg/mL)
Acetylsalicylic acid (20 mg/mL)	Phenylephrine (1 mg/mL)
Chlorpheniramine maleate (5 mg/mL)	Loratidine (100 ng/mL)
Dextromethorphan (10 mg/mL)	Diphenhydramine HCl (5 mg/mL)
Fexofenadine (500 ng/mL)	Zanamivir (1 mg/mL)
Amantadine (500 ng/mL)	Rimantadine (500 ng/mL)
Albuterol (0.083 mg/mL)	Oseltamivir (500 ng/mL)
Ribavirin (500 ng/mL)	Synagis™ (0.1 mg/mL)

## AVAILABILITY

Cat. No.	Description
256050	<b>Directigen™</b> EZ Flu A+B 30 Test Kit
220144	<b>BBL™ CultureSwab™</b> EZ 100 (single swab) for throat swab specimens
220115	<b>BBL™ CultureSwab™</b> Sterile Single Swab, Pkg. of 100
220131	<b>BBL™ CultureSwab™</b> Liquid Amies, Flexible Aluminum Wire, Pkg. of 50
220134	<b>BBL™ CultureSwab™</b> Liquid Stuart, Flexible Aluminum Wire, Pkg. of 50
221819	Normal, saline, 5 mL, Ctn. of 100
220220	<b>BD™</b> Universal Viral Transport 3 mL Vial, Ctn. of 50
220250	Regular Flocked Swab, Sterile Single Wrapped, Ctn. of 100
220251	Minitip Flocked Swab, Sterile Single Wrapped, Ctn. of 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, Sterile Single Wrapped, Ctn. of 100
256033	<b>Directigen™</b> EZ Flu A+B Control Set, Ctn. of 10

## REFERENCES

1. Simonsen L., Fukuda K, Schonberger LB, Cox NJ. Impact of influenza epidemics on hospitalizations. *J. Infect. Dis.* 2000; *187*:831-7.
2. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA* 2003; *289*: 179-86.
3. Kaiser, L., Couch, R.B., Galasso, G.J., Glezen, W.P., Webster, R.G., Wright, P.F., and Hayden, F.G. 1999. First international symposium on influenza and other respiratory viruses: summary and overview Kapalua, Maui, Hawaii, December 4-6, 1998. *Antiviral Res.*, *42*:149-176.
4. Cox, N.J., and Bender, C.A. 1995. The molecular epidemiology of influenza viruses. *Virology*, *6*:359-370.
5. Todd, S.J., Minnich, L., and Waner, J.L. 1995. Comparison of rapid immunofluorescence procedure with TestPack RSV and Directigen Flu A for diagnosis of respiratory syncytial virus and influenza A virus. *J. Clin. Microbiol.* *33*:1650-1651.
6. Harris, P.O. 1989. Clinical relevance and efficient detection of seven major respiratory viruses. *ACL*. p. 15-19.
7. McElhane, J.E., Gravenstein, S., Krause, P., Hooton, J.W., Upshaw, C.M., and Drinka, P. 1998. Assessment of markers of the cell-mediated immune response after influenza virus infection in frail older adults. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* *5*:840-844.
8. Fan, J., Henrickson, K.J., and Savatski, L.L. 1998. Rapid simultaneous diagnosis of infections with respiratory syncytial viruses A and B, influenza viruses A and B, and human parainfluenza virus types 1,2, and 3 by multiplex quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction-hybridization assay (hexaplex). *Clin. Infect. Disease* *26*:1397-1402.
9. Wright, K.E., Wilson, G.A.R., Novosad, D., Dimock, C., Tan, D., and Weber, J.M. 1995. Typing and subtyping of influenza viruses in clinical samples by PCR. *J. Clin. Microbiol.* *33*:1180-1184.
10. Kendal, A.P. 1985. Influenza Viruses. p. 341-357. *Laboratory Diagnosis of Viral Infections*, In H. Lennette, (ed.) Marcel Dekker, Inc., New York.
11. McQuillen, J., Madeley, C.R., and Kendal, A.P. 1985. Monoclonal antibodies for the rapid diagnosis of influenza A and B virus infections by immunofluorescence. *Lancet*. *ii*: 911-914.
12. Guenther, S.H., and Linnemann, C.C., Jr. 1988. Indirect immunofluorescence assay for rapid diagnosis of influenza virus. *Laboratory Medicine.* *19*: 581-583.
13. Minnick, L.L., and Ray, C.G. 1986. Early testing of cell cultures for detection of hemadsorbing viruses. *J. Clin. Microbiol.* *25*: 421-422.
14. Schmidt, N.J., Ota, M., Gallo, D., and Fox, V.L. 1982. Monoclonal antibodies for rapid, strain specific identification of influenza virus isolates. *J. Clin. Microbiol.* *16*: 763-765.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
16. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* *17*:53-80.
17. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S Government Printing Office, Washington, D.C.
18. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EECP). *Office Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021-0045.

# BD Directigen EZ Flu A+B

## Pour la détection directe, différenciée des antigènes viraux d'influenza A et B

Français

### APPLICATION

Le test **Directigen** EZ Flu A+B est un dosage immunologique chromatographique rapide conçu pour la détection qualitative et directe des antigènes viraux d'influenza A et B à partir de lavages et aspirations rhino-pharyngés, d'écouvillonnages rhino-pharyngés et d'écouvillonnages de gorge chez des malades présentant des symptômes. Le test **Directigen** EZ Flu A+B est un test de différenciation, tel que les antigènes viraux d'influenza A peuvent être distingués de ceux d'influenza B à partir d'un même échantillon analysé sur un même dispositif. Le test devrait servir comme aide au diagnostic des infections par les virus influenza A ou B. Tous les résultats négatifs doivent être confirmés par la culture sur cellules parce que les résultats négatifs n'excluent pas une infection par un virus influenza et ils ne doivent pas être utilisés comme seuls fondements du traitement ou autres décisions de gestion.

Les caractéristiques de performance pour le virus influenza B pour les écouvillonnages rhino-pharyngés (NPS) ont été établies en utilisant essentiellement des échantillons rétrospectifs congelés. Les utilisateurs peuvent vouloir déterminer la sensibilité de ce test pour le virus influenza B en utilisant des échantillons fraîchement prélevés d'écouvillonnages rhino-pharyngés.

### RESUME ET EXPLICATION

La grippe se manifeste de manière classique par une subite poussée de fièvre, des frissons, des myalgies, un mal de tête, et une toux improductive. Les épidémies de grippe ont lieu en général pendant les mois d'hiver et sont responsables d'environ 114 000 hospitalisations<sup>1</sup> et 36 000 décès<sup>2</sup> chaque année aux Etats-Unis. Les virus influenza peuvent aussi causer des pandémies pendant lesquelles les taux de morbidité et de mortalité relevant de complications liées à la grippe augmentent de façon spectaculaire.

Les patients suspectés d'avoir la grippe peuvent bénéficier de traitements avec un agent antiviral surtout si ce traitement est administré dans les 48 h suivant le début de la maladie. Il est important de différencier rapidement entre le virus influenza A ou le virus influenza B pour pouvoir offrir un choix d'interventions antivirales sélectives aux médecins. De plus, il est important de déterminer si le virus influenza A ou le virus influenza B est la cause d'une maladie symptomatique dans une institution donnée (par ex., maison de soins) ou une communauté de sorte des mesures préventives appropriées puissent être prises en ce qui concerne les personnes susceptibles. Par conséquent, il est essentiel non seulement de déterminer rapidement si le virus influenza est présent mais aussi de quel type de virus influenza il s'agit.

Les tests de diagnostic disponibles pour les virus influenza comprennent le dosage immunologique rapide, l'immunofluorescence, la polymérisation en chaîne (PCR), la sérologie et la culture virale.<sup>3-10</sup> Les essais d'immunofluorescence consistent à colorer les échantillons immobilisés sur des lames de microscope au moyen d'anticorps à marqueurs fluorescents et à les observer en microscopie à fluorescence.<sup>5,11,12</sup> Les méthodes de culture consistent en l'isolement initial du virus en culture sur cellules, suivi de tests d'inhibition de l'hémadsorption, de tests d'immunofluorescence ou de neutralisation pour confirmer la présence de virus influenza.<sup>12-14</sup>

Le test **Directigen** EZ Flu A+B est un dosage immunologique chromatographique servant à déceler les antigènes viraux d'influenza A et B à partir d'échantillons des voies respiratoires de patients présentant des symptômes, avec un temps d'obtention des résultats de 15 min.

La rapidité et la simplicité de la mise en oeuvre du test **Directigen** EZ Flu A+B en font un test de détection des antigènes viraux d'influenza A et B, adapté au diagnostic d'urgence, fournissant rapidement des informations pertinentes pour aider au diagnostic de grippe. L'utilisation du test **Directigen** EZ Flu A+B pour différencier les virus influenza A des virus influenza B peut fournir la possibilité d'un choix plus sélectif d'intervention antivirale.

### PRINCIPES DE LA METHODE

Le test **Directigen** EZ Flu A+B est un essai chromatographique permettant de déceler qualitativement les antigènes viraux d'influenza A et B dans des échantillons préparés à partir de prélèvements respiratoires. Lorsque les prélèvements sont préparés et ajoutés dans le dispositif de test, les antigènes viraux d'influenza A et B se lient à des anticorps anti-virus influenza, conjugués à des particules de visualisation sur les bandelettes réactives A et B correspondantes. Le complexe anticorps-conjugué migre à travers la bandelette réactive vers la zone réactionnelle où il est capturé par la ligne d'anticorps présents sur la membrane. Un résultat positif pour l'influenza A apparaît sous forme de ligne rouge pourpre à la position " T " de test et la position " C " de contrôle dans la fenêtre de lecture de **Directigen** EZ Flu A. Un résultat positif pour l'influenza B apparaît sous forme de ligne rouge pourpre à la position " T " de test et la position " C " de contrôle dans la fenêtre de lecture de **Directigen** EZ Flu B.

## REACTIFS

La trousse **Directigen EZ Flu A+B** kit comprend les éléments suivants :

Dispositifs <b>BD Flu A+B</b>	30 dispositifs	Dispositif en pochette aluminium contenant deux bandelettes réactives. Chaque bandelette dispose d'une ligne témoin d'anticorps monoclonaux réagissant soit avec l'antigène viral d'influenza A ou B et d'une ligne de contrôle d'anticorps anti-espèce.
Réactif E	4,7 mL	Détergent avec 0,2 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Écouvillon de contrôle A+/B-	1	Contrôle positif du virus influenza A et négatif du virus influenza B, antigène du virus influenza A (nucléoprotéine recombinante inactive) avec < 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Écouvillon de contrôle B+/A-	1	Contrôle positif du virus influenza B et négatif du virus influenza A, antigène du virus influenza B (nucléoprotéine recombinante inactive) avec < 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Tubes <b>DispensTube</b>	30	Tubes pour l'extraction et la préparation de l'échantillon et son introduction dans le dispositif.
Embouts <b>DispensTube</b>	30	Embouts de filtration pour l'introduction de l'échantillon dans le dispositif.

**Matériaux requis mais non fournis** : Pipette (capable de distribuer 300 µL), compte-minutes, agitateur à vortex, milieu de transports (cf. Prélèvement et manipulation des échantillons), sérum physiologique normal et écouvillons.

### Avertissements et précautions :

Pour le diagnostic *in vitro*.

- Si, sur la base des critères actuels cliniques et de dépistage épidémiologique recommandés par les autorités de santé publique, on soupçonne une infection avec un nouveau virus influenza de type A, on doit prélever des échantillons en prenant les précautions de contrôle de l'infection appropriées pour de nouvelles races de virus influenza virulentes et les envoyer aux laboratoires de dépistage nationaux ou locaux pour des tests de confirmation. Dans de tels cas, une culture virale ne doit pas être tentée à moins de disposer d'une unité BSL 3+ pour recevoir et mettre en culture les échantillons.
- Des micro-organismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite, de l'immunodéficience humaine et de nouveaux virus influenza, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les "Précautions standard"<sup>15-18</sup> et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler, conserver et éliminer tout échantillon et tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium qui est nocif en cas d'inhalation, d'ingestion ou de contact dermique. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. En cas de contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.
- Ne pas utiliser les composants de la trousse au-delà de la date de péremption.
- Ne pas mélanger des réactifs provenant de trousse portant des numéros de lot de kit différents.
- Ne pas réutiliser le dispositif.
- Ne pas utiliser la trousse si les Contrôles ne donnent pas les résultats escomptés.

**Manipulation et conservation** : Les trousse peuvent être conservées à 2–25 °C. NE PAS CONGELER. Les réactifs et les dispositifs doivent se trouver à température ambiante (15–25 °C) au moment du test.

## PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

### Transport et conservation des échantillons :

Les échantillons fraîchement prélevés doivent être immédiatement préparés et analysés. Si nécessaire, les échantillons (autres que les écouvillonnages de gorge) peuvent être conservés dans un milieu de transport approprié à 2–8 °C jusqu'à 72 h ou à -20 °C pendant sept jours au plus.

Il est indispensable de se conformer à la méthode adéquate de prélèvement et de préparation des échantillons. Ne pas centrifuger les échantillons avant de les utiliser parce que le retrait du matériau cellulaire peut diminuer la sensibilité du test. Les échantillons prélevés au début de la maladie contiendront les titres viraux les plus élevés.

**Milieux de transport** : les milieux de transport suivants ont été testés et se sont avérés compatibles avec le test **Directigen EZ Flu A+B** :

Milieu Amies (liquide)	PBS à 0,5 % de sérum albumine bovine (BSA)
Milieu Bartel ViraTrans	PBS à 0,5 % de gélatine
Milieu essentiel minimum d'Earle (EMEM)	Sérum physiologique tamponné au phosphate (PBS)
EMEM avec 0,5 % de BSA	Starplex Multitrans
EMEM avec 1 % de BSA	Phosphate de saccharose (2-SP)
Soluté de base de Hanks	Bouillon <b>Trypticase</b> soja
Milieu M4	Bouillon <b>Trypticase</b> soja + 0,5 % de gélatine
Milieu M4 RT	Bouillon <b>Trypticase</b> soja + 0,5 % de BSA
Milieu M5	Milieu de transport viral universel <b>BD</b>
Milieu Stuart modifié (liquide)	Bouillon d'infusion de veau (VIB)
Sérum physiologique normal*	VIB avec 0,5 % de BSA

\*La conservation au congélateur des échantillons prélevés dans du sérum physiologique normal est déconseillée pour les tests effectués avec **Directigen EZ Flu A+B**.

D'autres milieux de transport peuvent être utilisés après validation par un contrôle approprié.

**REMARQUE :** Les milieux EMEM contenant de la lactalbumine (c.-à-d. 0,5 ou 1,0 %) ou tout autre milieu de transport contenant de la lactalbumine ne sont pas compatibles avec le test **Directigen EZ Flu A+B**.

**Prélèvement et préparation des échantillons :** Les échantillons appropriés au test **Directigen EZ Flu A+B** sont les lavages et aspirations rhino-pharyngés, les écouvillonnages rhino-pharyngés et les écouvillonnages de gorge. Un faux négatif risque d'être obtenu si le prélèvement, la manipulation ou le transport des échantillons a été mal effectué ; par conséquent compte tenu de l'importance de la qualité des échantillons sur l'exactitude des résultats du test, une formation au prélèvement des échantillons est fortement recommandée.

**Procédure pour les échantillons prélevés par lavages/aspirations rhino-pharyngés et par écouvillonnages rhino-pharyngés :**

1. Pour les lavages et aspirations rhino-pharyngés, prélever de préférence 1 à 3 mL d'échantillon. Si un milieu de transport est utilisé, préférer le niveau de dilution minimale de l'échantillon.
2. Eviter de recourir à un volume de lavage trop important pour ne pas risquer de diminuer la sensibilité du test.
3. Pour les écouvillonnages rhino-pharyngés, placer les écouvillons dans 1 à 3 mL de milieu de transport après le prélèvement.
4. Traiter l'échantillon comme indiqué au paragraphe « Mode opératoire du test ».

**Procédure pour les échantillons prélevés par écouvillonnage de gorge (des écouvillons en polyuréthane [mousse] sont recommandés – voir « Conditionnement ») :**

1. Les échantillons prélevés par écouvillonnage de gorge doivent être préparés sans milieu de transport comme décrit dans « Mode opératoire du test ».

## METHODE

### Mode opératoire du test

#### REMARQUES :

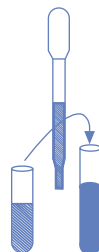
- Les réactifs, les échantillons et les dispositifs doivent se trouver à température ambiante (15-25 °C) au moment du test.
- Bien mélanger tous les échantillons avant de prélever une aliquote pour le test. **Ne pas centrifuger les échantillons.**
- Tenir les tubes **DispensTube** et les flacons de réactifs verticalement (à environ 2,5 cm au-dessus des puits d'échantillon du dispositif **Directigen EZ Flu A+B** ou du tube **DispensTube**) et faire tomber les gouttes doucement une à une.
  1. Retirer le dispositif **Directigen Flu A+B** de sa pochette en aluminium immédiatement avant utilisation.
  2. Etiqueter un dispositif et un tube **DispensTube** pour chaque contrôle et chaque échantillon à tester.
  3. Placer le(s) tube(s) **DispensTube** étiqueté(s) dans le logement correspondant du poste de travail ou du portoir.
  4. Mélanger doucement le Réactif E. Ajouter 4 gouttes dans le tube **DispensTube**. Maintenir la bouteille de réactif verticale (environ 2,5 cm au-dessus du tube **DispensTube**) tout en distribuant les gouttes.



5. Traiter les échantillons ou les contrôles suivant la procédure ci-dessous :

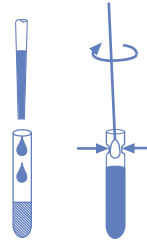
a. **Pour les échantillons prélevés par lavages/aspirations rhino-pharyngés et les échantillons d'écouvillonnages rhino-pharyngés dans le milieu de transport :**

1. Agiter au vortex ou mélanger soigneusement l'échantillon. **Ne pas centrifuger.**
2. Distribuer à la pipette, 300 µL d'échantillon dans le tube **DispensTube** (contenant le Réactif E).



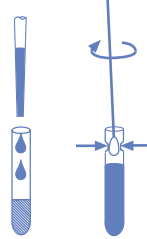
**b. Pour les échantillons d'écouvillonnage de gorge :**

1. Ajouter 300 µL de sérum physiologique au tube **DispensTube** (contenant le Réactif E).
2. Introduire l'écouvillon et extraire en tournant l'écouvillon 6-8 fois tout en pinçant le tube.
3. Retirer l'écouvillon tout en pinçant le tube pour éliminer l'excès de fluide de l'embout de l'écouvillon.



**c. Pour les contrôles en trousse :**

1. Ajouter 300 µL de sérum physiologique au tube **DispensTube** (contenant le Réactif E).
2. Introduire l'écouvillon de contrôle et extraire en tournant l'écouvillon 6-8 fois tout en pinçant le tube.
3. Retirer l'écouvillon de contrôle tout en pinçant le tube pour éliminer l'excès de fluide de l'embout de l'écouvillon.



6. Introduire un embout **DispensTube** dans le tube **DispensTube** contenant l'échantillon préparé ou le contrôle.

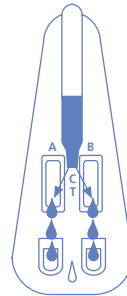
**Remarque : Ne pas utiliser d'embouts provenant d'autres produits Directigen.**



7. Agiter au vortex ou bien mélanger.

8. Inverser le tube **DispensTube** et en le tenant par sa moitié supérieure loin de l'embout, presser doucement afin d'extraire trois (3) gouttes de l'échantillon préparé dans le puits d'échantillon Flu A et trois (3) gouttes dans le puits d'échantillon Flu B du dispositif étiqueté **Directigen EZ Flu A+B**. Pour une bonne distribution, tenir les tubes **DispensTube** verticalement (à environ 2,5 cm de la surface du puits d'échantillon du dispositif **BD Flu A+B**) et faire tomber rapidement les gouttes une à une.

**Remarque : ne pas presser le tube à proximité de l'extrémité pour éviter d'éjecter l'embout et provoquer ainsi la fuite du contenu du tube.**



9. Après l'addition de l'échantillon, lire le résultat au bout de 15 min et enregistrer ce résultat.

**Contrôle de qualité :**

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes normatifs concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement.

Chaque dispositif **Directigen EZ Flu A+B** contient des contrôles internes de procédure positif et négatif :

- L'apparition d'une ligne témoin rouge pourpre dans la fenêtre de lecture de Flu A et/ou Flu B à la position « C » de contrôle constitue un contrôle interne positif qui valide le fonctionnement correct des réactifs et atteste l'utilisation du mode opératoire de test correct.
- La membrane autour des lignes témoins et de test Flu A et/ou Flu B sert de contrôle négatif interne pour le dispositif. Un arrière plan de couleur blanche ou rose pâle indique que le test s'exécute correctement.

Chaque trousse **Directigen EZ Flu A+B** contient les écouvillons de contrôle A+/B- et B+/A- :

Ces contrôles sont testés de la même manière que les échantillons de patient et constituent un moyen externe de contrôle de la qualité. Au minimum, ces contrôles doivent être analysés pour servir de procédure de contrôle de la qualité de chaque nouveau lot ou arrivage reçu par le laboratoire. Si désiré, on peut vérifier la bonne performance des réactifs et la bonne application du mode opératoire de test correct en utilisant des échantillons connus comme étant positif ou négatif pour les virus influenza A ou B.

La formation d'une ligne rouge pourpre sur la membrane de la fenêtre de lecture Flu A à la position de test (T) et à la position de contrôle (C) lorsque le Contrôle A+/B- est testé et dans la fenêtre Flu B à la position de test (T) et à la

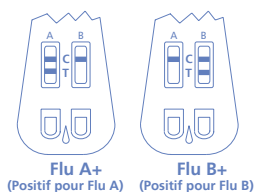
position de contrôle (C) lorsque le Contrôle B+/A- est testé, atteste que la capacité de fixation de l'antigène d'influenza de la bandelette réactive est fonctionnelle.

La formation d'une ligne témoin rouge pourpre à la position de contrôle (C) dans la fenêtre de lecture Flu B et l'absence d'une ligne rouge pourpre à la position de test (T) de cette même fenêtre lorsque le Contrôle A+/B- est utilisé constitue un résultat de contrôle négatif pour Flu B approprié qui atteste un fonctionnement correct des réactifs et l'utilisation du mode opératoire de test approprié. De même, la formation d'une ligne témoin rouge pourpre à la position de contrôle (C) de la fenêtre de lecture Flu A et l'absence d'une ligne rouge pourpre à la position de test (T) de cette même fenêtre lorsque le contrôle B+/A- est testé constitue un résultat de contrôle négatif approprié pour le virus influenza A.

Si les contrôles de la trousse ne donnent pas les résultats escomptés, ne pas communiquer les résultats cliniques. Contacter le représentant local ou le service technique de BD pour toute assistance complémentaire.

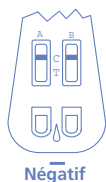
## INTERPRETATION DES RESULTATS

**REMARQUE :** l'intensité de la ligne témoin peut varier de la fenêtre de lecture Flu A à celle de Flu B. Une variabilité de l'intensité de la ligne témoin est acceptable. L'arrière plan doit être de blanche à rose clair et peut varier d'intensité entre les fenêtres de lecture Flu A et Flu B.

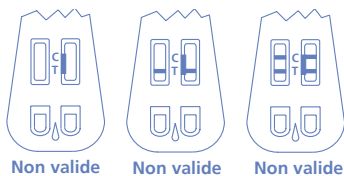


**Test positif pour Flu A (antigène de l'influenza A présent)** – Une ligne visible rouge pourpre apparaît à la position « T » de test et la position « C » de contrôle dans la fenêtre de lecture de **Directigen EZ Flu A**. Ce résultat n'identifie aucun sous type spécifique de virus influenza A. Une ligne rouge pourpre doit aussi apparaître à la position « C » de contrôle dans la fenêtre de lecture **Directigen EZ Flu B**. Ceci indique que l'antigène d'influenza A a été décelé dans l'échantillon. La couleur de l'arrière plan peut aller du blanc au rose clair.

**Test positif pour Flu B (antigène de l'influenza B présent)** – Une ligne rouge pourpre apparaît à la position « T » de test et la position « C » de contrôle dans la fenêtre de lecture de **Directigen EZ Flu B**. Une ligne rouge pourpre doit aussi apparaître à la position « C » de contrôle dans la fenêtre de lecture **Directigen EZ Flu A**. Ceci indique que l'antigène d'influenza B a été décelé dans l'échantillon. La couleur de l'arrière plan peut aller du blanc au rose clair.



**Test négatif pour Flu A ou Flu B (pas d'antigène détecté)** – Aucune ligne rouge pourpre n'est visible à la position « T » de test ou dans la fenêtre de lecture Flu A ou la fenêtre de lecture Flu B, ce qui indique que l'antigène d'influenza A ou l'antigène d'influenza B ou les deux n'ont pas été décelés dans l'échantillon. Ces résultats n'excluent pas une infection par un virus influenza. Une ligne rouge pourpre à la position « C » de contrôle dans les deux fenêtres de lecture confirme la performance correcte du mode opératoire du test et des réactifs. La couleur de l'arrière plan peut aller du blanc au rose clair.



**Test non valide** - Le test est non valide ou pour Flu A ou pour Flu B ou pour les deux s'il n'y a aucune ligne rouge pourpre près de la position « C » dans la/les fenêtre(s) de lecture correspondante(s). Le test est aussi non valide si une ligne rouge pourpre apparaît à la position « T » dans les deux fenêtres de lecture Flu A et Flu B pour le même échantillon. Recommencer le test dans ce cas.

## RAPPORT DES RESULTATS

**Test positif** Positif pour la présence de l'antigène d'influenza A ou d'influenza B. Un résultat positif peut être obtenu en l'absence de virus viable.

**Test négatif** Négatif pour la présence de l'antigène d'influenza A ou d'influenza B. Une infection grippale ne peut pas être écartée car la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon peut être inférieure à la limite de détection du test. Il est recommandé de confirmer un résultat négatif par une mise en culture.

**Test non valide** Le résultat du test n'est pas concluant. Ne pas rapporter de résultats.

## LIMITES DE LA METHODE

- L'étiologie des infections respiratoires dues à des microorganismes autres que les virus influenza A ou B ne peut être établie par ce test. Le test **Directigen EZ Flu A+B** peut détecter des particules d'influenza viables et non viables. Les performances du test **Directigen EZ Flu A+B** dépendent de la charge en antigène et ne sont pas nécessairement corrélées aux résultats obtenus en culture cellulaire pour le même échantillon.
- Des faibles niveaux de développement viral peuvent donner un faux négatif ; par conséquent un résultat de test négatif n'élimine pas la possibilité d'une infection grippale de type A, de type B ou deux types A et B.
- La validité du test **Directigen EZ Flu A+B** n'a pas été prouvée pour l'identification ou la confirmation d'isolats en cultures cellulaires.
- Les caractéristiques de performance pour le type A ont été établies lorsque les virus influenza de type A/H3 et A/H1 étaient les virus influenza de type A prédominants. Lorsque de nouveaux virus influenza de type A apparaissent les caractéristiques de performance peuvent varier.
- Les enfants ont tendance à incuber les virus pendant des périodes plus longues que les adultes, ce qui peut entraîner des différences de sensibilité entre les adultes et les enfants.

- Les valeurs positives et négatives de prédiction dépendent étroitement de la prévalence. Des résultats de test faussement positifs ont plus de chance d'être obtenus pendant les périodes de faible activité grippale, lorsque la prévalence est modérée à faible.

#### VALEURS ESCOMPTÉES

Le taux de résultats positifs observé pour les échantillons respiratoires testés variera en fonction de la méthode de prélèvement des échantillons, du système de manipulation ou de transport employé, de la méthode de détection utilisée, de la période de l'année, de l'âge du patient, de la région géographique et, surtout, de la prévalence locale de la maladie. La prévalence générale observée avec la culture pendant l'étude clinique 2003-2004 a été de 24,3 % pour l'influenza A et 3,8 % pour l'influenza B. Pendant l'étude clinique 2004-2005, la prévalence générale observée avec la culture a été de 26,0 % pour l'influenza A et 31,2 % pour l'influenza B. La prévalence globale observée en culture pendant l'étude clinique de 2006, était de 33,9 % pour le virus influenza A et 0,2 % pour le virus influenza B.

#### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances du test **Directigen EZ Flu A+B** ont été établies par des études multicentriques menées dans cinq centres d'investigation clinique pendant la saison 2003-2004 des affections respiratoires, dans treize centres d'investigation pendant la saison 2004-2005 des affections respiratoires et dans deux centres d'investigation pendant la saison 2006. Les centres d'investigation cliniques se situaient dans des régions géographiquement variées aux Etats-Unis, au Japon, à Hong Kong et en Nouvelle-Zélande.

Un total de 1191 échantillons présumés et de 59 échantillons rétrospectifs ont été évalués en utilisant le test **Directigen EZ Flu A+B** et la culture cellulaire. Ces échantillons consistaient en des lavages et aspirations rhino-pharyngés, des écouvillonnages rhino-pharyngés et des écouvillonnages de gorge provenant de patients soupçonnés d'avoir la grippe.

#### Performance clinique :

Les tableaux 1 à 6 donnent la performance du test **Directigen EZ Flu A+B** comparée à celle de la culture cellulaire pour chaque type d'échantillon.

**Tableau 1 : Résumé des performances du test Directigen EZ Flu A+B comparées à celles de la culture cellulaire pour tous les types d'échantillons - influenza A pour les saisons de troubles respiratoires 2003-2004, 2004-2005 et 2006 combinées**

Type d'échantillon	Test Directigen EZ Flu A+B	Culture cellulaire	
		P	N
Lavages/aspirations rhino-pharyngés	P	115	2
	N	19	330
Sensibilité : 86 % (95 % IC : 79 % - 91 %) Spécificité : 99 % (95 % IC : 98 % - 100 %)			
Ecouvillonnages de gorge	P	43	29
	N	13	184
Sensibilité : 77 % (95 % IC : 64 % - 87 %) Spécificité : 86 % (95 % IC : 81 % - 91 %)			
Ecouvillonnages rhino-pharyngés	P	146	20
	N	15	275
Sensibilité : 91 % (95 % IC : 85 % - 95 %) Spécificité : 93 % (95 % IC : 90 % - 96 %)			

**Tableau 2 : Résumé des performances du test Directigen EZ Flu A+B comparées à celles de la culture cellulaire pour tous les types d'échantillons - influenza B pour les saisons de troubles respiratoires 2003-2004, 2004-2005 et 2006 combinées**

Type d'échantillon	Test Directigen EZ Flu A+B	Culture cellulaire	
		P	N
Lavages/aspirations rhino-pharyngés	P	57	1
	N	14	394
Sensibilité : 80 % (95 % IC : 69 % - 89 %) Spécificité : 100 % (95 % IC : 99 % - 100 %)			
Ecouvillonnages de gorge	P	38	3
	N	17	211
Sensibilité : 69 % (95 % IC : 55 % - 81 %) Spécificité : 99 % (95 % IC : 96 % - 100 %)			
Ecouvillonnages rhino-pharyngés	P	1	0
	N	0	455
Sensibilité : 100 % (95 % IC : 3 % - 100 %) Spécificité : 100 % (95 % IC : 99 % - 100 %)			

**Tableau 3 : Résumé des performances du test Directigen EZ Flu A+B comparées à celles de la culture cellulaire pour les échantillons rétrospectifs d'écouvillonnages rhino-pharyngés - influenza B pour la saison 2005 des affections respiratoires**

Type d'échantillon	Culture cellulaire		
	Test Directigen EZ Flu A+B	P	N
	Ecouvillonnages rhino-pharyngés	P	32
	N	11	16
Concordance des positifs : 74 % (95 % IC : 59 % - 87 %)			
Concordance des négatifs : 100 % (95 % IC : 79 % - 100 %)			

**Tableau 4 : Résumé des performances du test Directigen EZ Flu A+B comparées à celles de la culture cellulaire pour tous les types d'échantillons par population - influenza A pour la combinaison des saisons 2003-2004, 2004-2005 et 2006 des affections respiratoires**

Type d'échantillon	Test Directigen EZ Flu A+B	Culture cellulaire			
		Pédiatrique (≤ 21 ans)		Adulte (> 21 ans)	
		P	N	P	N
Lavages/aspirations rhino-pharyngés	P	94	2	21	0
	N	11	294	8	36
Sensibilité : <b>Pédiatrique</b> : 90 % (95 % CI: 82 % - 95 %); <b>Adulte</b> : 72 % (95 % CI: 53 % - 87 %)					
Spécificité : <b>Pédiatrique</b> : 99 % (95 % CI: 98 % - 100 %); <b>Adulte</b> : 100 % (95 % CI: 90 % - 100 %)					
Ecouvillonnages de gorge	Test Directigen EZ Flu A+B	Pédiatrique (≤ 21 ans)		Adulte (> 21 ans)	
		P	N	P	N
		P	38	23	5
	N	10	151	3	33
Sensibilité : <b>Pédiatrique</b> : 79 % (95 % CI: 65 % - 90 %); <b>Adulte</b> : 63 % (95 % CI: 24 % - 91 %)					
Spécificité : <b>Pédiatrique</b> : 87 % (95 % CI: 81 % - 91 %); <b>Adulte</b> : 85 % (95 % CI: 69 % - 94 %)					
Ecouvillonnages rhino-pharyngés	Test Directigen EZ Flu A+B	Pédiatrique (≤ 21 ans)		Adulte (> 21 ans)	
		P	N	P	N
		P	62	11	84
	N	6	84	9	191
Sensibilité : <b>Pédiatrique</b> : 91 % (95 % IC : 82 % - 97 %); <b>Adulte</b> : 90 % (95 % IC : 82 % - 96 %)					
Spécificité : <b>Pédiatrique</b> : 88 % (95 % IC : 80 % - 94 %); <b>Adulte</b> : 96 % (95 % IC : 92 % - 98 %)					

**Tableau 5 : Résumé des performances du test Directigen EZ Flu A+B comparées à celles de la culture cellulaire pour tous les types d'échantillons par population - influenza B pour les saisons de troubles respiratoires 2003-2004, 2004-2005 et 2006 combinées**

Type d'échantillon	Test Directigen EZ Flu A+B	Culture cellulaire			
		Pédiatrique (≤ 21 ans)		Adulte (> 21 ans)	
		P	N	P	N
Lavages/aspirations rhino-pharyngés	P	49	1	8	0
	N	13	338	1	56
Sensibilité : <b>Pédiatrique</b> : 79 % (95 % CI: 67 % - 88 %); <b>Adulte</b> : 89 % (95 % CI: 52 % - 100 %)					
Spécificité : <b>Pédiatrique</b> : 100 % (95 % CI: 98 % - 100 %); <b>Adulte</b> : 100 % (95 % CI: 94 % - 100 %)					
Ecouvillonnages de gorge	Test Directigen EZ Flu A+B	Pédiatrique (≤ 21 ans)		Adulte (> 21 ans)	
		P	N	P	N
		P	19	1	19
	N	12	190	5	21
Sensibilité : <b>Pédiatrique</b> : 61 % (95 % CI: 42 % - 78 %); <b>Adulte</b> : 79 % (95 % CI: 58 % - 93 %)					
Spécificité : <b>Pédiatrique</b> : 99 % (95 % CI: 97 % - 100 %); <b>Adulte</b> : 91 % (95 % CI: 72 % - 99 %)					
Ecouvillonnages rhino-pharyngés	Test Directigen EZ Flu A+B	Pédiatrique (≤ 21 ans)		Adulte (> 21 ans)	
		P	N	P	N
		P	0	0	1
	N	0	163	0	292
Sensibilité : <b>Pédiatrique</b> : Sensibilité non calculée; <b>Adulte</b> : 100 % (95 % IC : 3 % - 100 %)					
Spécificité : <b>Pédiatrique</b> : 100 % (95 % IC : 98 % - 100 %); <b>Adulte</b> : 100 % (95 % IC : 99 % - 100 %)					

**Tableau 6 : Résumé des performances du test Directigen EZ Flu A+B comparées à celles de la culture cellulaire pour les échantillons rétrospectifs d'écouvillonnages rhino-pharyngés par population - influenza B pour la saison 2005 des affections respiratoires**

Type d'échantillon	Test Directigen EZ Flu A+B	Culture cellulaire			
		Pédiatrique (≤ 21 ans)		Adulte (> 21 ans)	
		P	N	P	N
Ecouvillonnages rhino-pharyngés	P	20	0	12	0
	N	6	10	5	6
Concordance des positifs : <b>Pédiatrique</b> : 77 % (95 % IC : 56 % -91 %) ; <b>Adulte</b> : 71 % (95 % IC : 44% - 90%)					
Concordance des négatifs : <b>Pédiatrique</b> : 100 % (95 % IC : 69 % -100 %) ; <b>Adulte</b> : 100 % (95 % IC : 54 % - 100 %)					

**Reproductibilité** : la reproductibilité du test **Directigen EZ Flu A+B** a été évaluée dans quatre sites. Le panel de reproductibilité était composé de 20 échantillons simulés de virus influenza. Ces échantillons comprenaient des échantillons faiblement positifs pour le virus influenza A ou le virus influenza B (voisins du seuil limite de détection), des échantillons modérément positifs pour le virus influenza A ou B et des échantillons négatifs. La reproductibilité globale du test **Directigen EZ Flu A+B** était de 99,6 %.

#### Etudes analytiques

##### Sensibilité analytique (limite de détection)

La limite de détection (LDD) du test **Directigen EZ Flu A+B** a été établie sur un total de 17 souches de virus influenza ; 11 souches d'influenza A et six souches d'influenza B.

Type	Souche du virus influenza	LDD (CEID <sub>50</sub> /mL)*	LDD (TCID <sub>50</sub> /mL**)
A	A/PR/8/34 (H1N1)	1,75 X 10 <sup>4</sup>	-
A	A/FM/1/47 (H1N1)	1,98 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/NWS/33 (H1N1)	1,00 X 10 <sup>4</sup>	-
A	A1/Denver/1/57 (H1N1)	5,56 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/New Jersey/8/76 (H1N1)	4,45 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	1,00 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>2</sup>	-
A	A2/Aichi/2/68 (H3N2)	3,50 X 10 <sup>3</sup>	-
A	A/Victoria/3/75 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>4</sup>	-
A	A/California/04/09 (H1N1)	-	5,37 X 10 <sup>2</sup>
A	A/California/07/09 (H1N1)	-	1,86 X 10 <sup>3</sup>
B	B/Lee/40	6,95 X 10 <sup>5</sup>	-
B	B/Allen/45	2,00 X 10 <sup>3</sup>	-
B	B/GL/1739/54	5,56 X 10 <sup>3</sup>	-
B	B/Taiwan/2/62	3,50 X 10 <sup>2</sup>	-
B	B/Maryland/1/59	2,23 X 10 <sup>4</sup>	-
B	B/Hong Kong/5/72	2,23 X 10 <sup>4</sup>	-

\* CEID<sub>50</sub>/mL = Dose infectieuse pour l'embryon de poulet à laquelle 50 % des embryons périssent

\*\*TCID<sub>50</sub>/mL = Dose infectieuse en culture tissulaire à laquelle 50% des cellules sont infectées

Bien que ce test ait détecté le virus H1N1 2009 mis en culture à partir d'un échantillon respiratoire humain positif, les caractéristiques de performances de ce dispositif n'ont pas été établies sur des échantillons cliniques positifs pour le virus de l'influenza H1N1 2009. Le test **BD Directigen EZ Flu A+B** peut différencier les virus de l'influenza A et B, mais il ne peut pas différencier les sous-types de virus de l'influenza.

##### Spécificité analytique (réactivité croisée)

Le test **Directigen EZ Flu A+B** a été évalué sur un total de 98 microorganismes. Les 51 bactéries et les deux levures ont été testées à une concentration de ~10<sup>8</sup> UFC/mL (UFC - Unités Formant Colonies). *Mycoplasma pneumoniae* et *Mycoplasma orale* ont été respectivement testés à une concentration de > 10<sup>6</sup> et de >10<sup>7</sup> UCC/mL (UCC - Unités Changeant de Couleur). Les trois souches de mycobactéries ont été ensemencées à raison de 10<sup>7</sup> UFC/mL et *Chlamydia trachomatis* LGVII a été testée à 2,5 X 10<sup>8</sup> CI/mL (CI = corps d'inclusion). Les 39 virus testés ont été évalués aux concentrations de 10<sup>4</sup> à 10<sup>9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (TCID<sub>50</sub> - Dose infectieuse en culture tissulaire à laquelle 50 % des cellules sont lysées) ou de 10<sup>4</sup> à 10<sup>8</sup> CEID<sub>50</sub>/mL (CEID<sub>50</sub> - Dose infectieuse pour l'embryon de poulet à laquelle 50 % des embryons de poulet sont infectés). Tous les micro-organismes (autres que les virus de l'influenza) ont montré des résultats de test d'influenza A et B négatifs. Les virus de l'influenza A testés (n = 2) ont montré des résultats de test positifs pour l'influenza A et négatifs pour l'influenza B. Les virus de l'influenza A testés (n = 6) ont montré des résultats de test positifs pour l'influenza B et négatifs pour l'influenza A.

<i>Acinetobacter baumannii (calcoaceticus)</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Coxsackievirus Type A9 (Griggs)
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Coxsackievirus Type A9 (P.B. Bozek)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Coxsackievirus Type B5 (Faulkner)
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Coxsackievirus Type B6 (Schmitt)
<i>Candida albicans</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Coxsackievirus Type A21 (Kuykendall)
<i>Candida glabrata</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	Cytomegalovirus (AD-169)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Prevotella oralis</i>	Echovirus Type 2 (Cornelis)
<i>Chlamydia trachomatis LGVII</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Echovirus Type 3 (Morrissey)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	Echovirus Type 6 (D'Amori)
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HSV Type 1 (HF)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	HSV Type 2 (MS)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	sub <i>minnesota</i>	Influenza A/PR/8/34 (H1N1)
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	Influenza A/Victoria/3/75 (H3N2)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Influenza B/Hong Kong/5/72
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus-Cowan 1</i>	Influenza B /Lee/40
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II groupe D	Influenza B/Allen/45
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Influenza B/GL/1739/54
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	Influenza B/Maryland/1/59
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	Influenza B/Taiwan/2/62
<i>Kingella kingae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Measles virus (Edmonston)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> group A	Mumps virus (Enders)
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	Parainfluenza Type 1 (Sendia/52)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. groupe B	Parainfluenza Type 2 (Greer)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. groupe C	Parainfluenza Type 3 (C243)
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus</i> sp. groupe F	Rhinovirus Type 1A (2060)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus</i> sp. groupe G	Rhinovirus Type 2 (HGP)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>	Rhinovirus Type 13 (353)
<i>Mycobacterium avium</i>	Adenovirus, Type 3 (GB)	Rhinovirus Type 15 (1734)
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Adenovirus, Type 5 (Adenoid 75)	Rhinovirus Type 16 (11757)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Adenovirus, Type 7 (Gomen)	Rhinovirus Type 37 (151-1)
<i>Mycoplasma orale</i>	Adenovirus, Type 10 (J.J.)	RSV Type A (Long)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adenovirus, Type 18 (D. C.)	RSV Type B (Wash/18537/62)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Coronavirus (229E)	VZV (Ellen)

#### Réactivité des souches avec les virus de l'influenza A et B

Le test **Directigen EZ Flu A+B** a été évalué sur un total de 39 souches d'influenza. Tous les sous-types connus d'hémagglutinine (15) et de neuraminidase (9) d'influenza A étaient représentés. Toutes les souches d'influenza A humaine et animale ont donné des résultats positifs pour Flu A et négatifs pour Flu B. Réciproquement, toutes les souches d'influenza B ont donné des résultats positifs pour Flu B et des résultats négatifs pour Flu A.

Virus influenza (Souche humaine)	Type viral	Virus influenza (Souche animale)	Type viral
A/NWS/33	A (H1N1)	A/Turkey/Kansas/4880/80	A (H1N1)
A/PR/8/34	A (H1N1)	A/Mallard/New York/6750/78	A (H2N2)
A1/FM/1/47	A (H1N1)	A/Turkey/England/69	A (H3N2)
A1/Denver/1/57	A (H1N1)	A/Chicken/Alabama/75	A (H4N8)
A/New Jersey/8/76 (Hsw N1)	A (H1N1)	A/Turkey/Wisconsin/68	A (H5N9)
A/Port Chalmers/1/73	A (H3N2)	A/Turkey/Canada/63	A (H6N8)
A/Victoria/3/75	A (H3N2)	A/Turkey/Oregon/71	A (H7N3)
A/Vietnam/3028/04	A (H5N1)	A/Turkey/Ontario/6118/67	A (H8N4)
A/Thailand/MK2/04	A (H5N1)	A/Turkey/Wisconsin/66	A (H9N2)
A/Hong Kong/486/97	A (H5N1)	A/Chicken/Germany/N/49	A (H10N7)
A/California/07/2004	A (H3N2)	A/Duck/Memphis/546/74	A (H11N9)
A/California/04/09	A (H1N1)	A/Duck/Alberta/60/76	A (H12N5)
A/California/07/09	A (H1N1)	A/Gull/MD/704/77	A (H13N6)
B/Lee/40	B	A/Mallard/Gurjev/263/82	A (H14N5)
B/Allen/45	B	A/Shearwater/WA/2576/79	A (H15N6)
B/GL/1739/54	B		
B/Maryland/1/59	B		
B/Taiwan/2/62	B		
B/Mass/3/66	B		
B/Hong Kong/5/72	B		
B/Victoria/504/00	B		
B/Tokyo/53/99	B		
B/Quingdao/102/91	B		
B/Leningrad/86/93	B		

**REMARQUE** : Les caractéristiques de performance pour la détection du virus influenza de type A à partir d'échantillons humains lorsque des sous-types autres que les virus influenza A/H3 et A/H1 apparaissent n'ont pas été établies.

Bien que ce test ait détecté le virus H1N1 2009 mis en culture à partir d'un échantillon respiratoire humain positif, les caractéristiques de performances de ce dispositif n'ont pas été établies sur des échantillons cliniques positifs pour le virus de l'influenza H1N1 2009. Le test **BD Directigen EZ Flu A+B** peut différencier les virus de l'influenza A et B, mais il ne peut pas différencier les sous-types de virus de l'influenza.

#### Substances interférentes

L'action de diverses substances a été évaluée avec le test **Directigen EZ Flu A+B**. Ces substances comprenaient du sang total (2 %) et des médicaments variés. Aucune interférence n'a été notée pour ce test avec aucune des substances testées.

#### Médicaments évalués

Trois bains de bouche à 25 %	Chlorhydrate de pseudoéphédrine (20 mg/mL)
Trois produits de gouttes pour la gorge à 25 %	Ether glycérique du gaïacol (20 mg/mL)
Trois pulvérisations nasales à 10 %	Ibuprofène (10 mg/mL)
4-acétamidophénol (10 mg/mL)	Oxymétazoline (0,05 mg/mL)
Acide acétylsalicylique (20 mg/mL)	Phényléphrine (1 mg/mL)
Maléate de chlorphéniramine (5 mg/mL)	Loratidine (100 ng/mL)
Dextrométhorphan (10 mg/mL)	Chlorhydrate de diphenhydramine (5 mg/mL)
Fexofénadine (500 ng/mL)	Zanamivir (1 mg/mL)
Amantadine (500 ng/mL)	Rimantadine (500 ng/mL)
Albutérol (0,083 mg/mL)	Oseltamivir (500 ng/mL)
Ribavirin (500 ng/mL)	Synagis (0,1 mg/mL)

#### CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
256050	Trousse de 30 tests <b>Directigen EZ Flu A+B</b>
220144	<b>BBL CultureSwab EZ 100</b> (écouvillon unique), pour échantillons d'écouvillonnage de gorge
220115	<b>BBL CultureSwab</b> écouvillon individuel stérile, boîte de 100.
220131	<b>BBL CultureSwab Liquid Amies</b> , fil souple en aluminium, boîte de 50
220134	<b>BBL CultureSwab Liquid Stuart</b> , fil souple en aluminium, boîte de 50
221819	Sérum physiologique normal, 5 mL, boîte de 100
220220	<b>BD Universal Viral Transport</b> , flacon de 3 mL, carton de 50
220250	Regular Flocked Swab, écouvillon stérile emballé individuellement, boîte de 100
220251	Minitip Flocked Swab, écouvillon stérile emballé individuellement, boîte de 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, écouvillon stérile emballé individuellement, boîte de 100
256033	<b>Directigen EZ Flu A+B Control Set</b> (jeu de contrôles), boîte de 10

**REFERENCES** : Voir la rubrique "References" du texte anglais

## **BD Directigen EZ Flu A+B** Für den differenzierten, direkten Nachweis von Virusantigenen gegen Influenza A und B

Deutsch

#### VERWENDUNGSZWECK

Der **Directigen EZ Flu A+B**-Test ist ein schneller chromatographischer Immunoassay für den direkten qualitativen Nachweis von Virusantigenen gegen Influenza A und B in Nasopharyngeal-Spülungen/-Aspiraten sowie Nasopharyngeal- und Rachenabstrichen von symptomatischen Patienten. Beim **Directigen EZ Flu A+B**-Test handelt es sich um einen differenzierten Test, so dass Influenza-A-Antigene mit einem einzigen Gerät und einer aufbereiteten Probe von Influenza-B-Virusantigenen unterschieden werden können. Der Test kommt bei der Diagnose von Virusinfektionen mit Influenza A und B zum Einsatz. Alle negativen Testergebnisse sind in Zellkulturen zu bestätigen, da negative Ergebnisse Influenzavirusinfektionen nicht ausschließen, und sind nicht als einzige Ausgangsbasis für Therapie- oder andere Behandlungsentscheidungen zu verwenden.

Die Leistungsmerkmale für den Influenza B-Test unter Verwendung von Nasopharyngeal-Abstrichen (NPS) wurden in erster Linie durch retrospektive, gefrorene Proben ermittelt. Möglicherweise möchten Benutzer die Empfindlichkeit des Tests für Influenza B bei frischen Nasopharyngeal-Abstrichen ermitteln.

#### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Typische Symptome für eine Influenza-Erkrankung sind das plötzliche Auftreten von Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen und trockener Husten. Influenza-Epidemien treten in der Regel in den Wintermonaten auf. Dabei werden in den USA pro Jahr schätzungsweise 114.000 Patienten stationär<sup>1</sup> behandelt und 36.000<sup>2</sup> Todesfälle verzeichnet. Influenza-Viren können auch Pandemien auslösen, bei denen die Erkrankungs- und Todesrate durch Influenza-bedingte Komplikationen dramatisch ansteigen kann.

Patienten, bei denen der Verdacht auf eine Influenza-Erkrankung besteht, können von einer Behandlung mit einem Virostatikum profitieren. Das gilt besonders, wenn es innerhalb der ersten 48 h nach Beginn der Erkrankung verabreicht wird. Dabei ist eine schnelle Unterscheidung von Influenza A und Influenza B von Bedeutung, damit sich der Arzt für eine spezifische antivirale Behandlung entscheiden kann. Darüber hinaus ist es wichtig festzustellen, ob Influenza A oder B die Ursache für eine symptomatische Erkrankung in einer bestimmten Einrichtung (z. B. einem Pflegeheim) oder einer Gemeinde ist, damit bei anfälligen Personen entsprechende vorbeugende Maßnahmen ergriffen werden können. Daher muss nicht nur schnell festgestellt werden, ob eine Influenza-Erkrankung vorliegt, sondern auch um welchen Typ Influenza-Virus es sich handelt.

Als diagnostische Tests auf Influenza stehen unter anderem der schnelle Immunoassay, der Immunfluoreszenzassay, die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), die Serologie und die Viruskultur zur Verfügung.<sup>3-10</sup> Bei Immunfluoreszenzassays werden auf Objektträger fixierte Proben anhand von mit fluoreszierendem Farbstoff markierten Antikörpern eingefärbt und mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie untersucht.<sup>5,11,12</sup> Bei Kulturmethoden wird zunächst eine Virusisolation in Zellkulturen vorgenommen, gefolgt von einer Hämadsorptionshemmung, Immunfluoreszenz oder eines Neutralisationstests zur Bestätigung des Vorhandenseins des Influenza-Virus.<sup>12-14</sup>

Der **Directigen EZ Flu A+B**-Test ist ein chromatographischer Immunoassay für den Nachweis von Influenza-A- oder Influenza-B-Antigenen in Atemwegsproben von symptomatischen Patienten, bei dem das Ergebnis innerhalb von 15 Min feststeht.

Aufgrund seiner schnellen und vereinfachten Durchführbarkeit eignet sich der **Directigen EZ Flu A+B**-Test zum Nachweis des Influenza-A- und Influenza-B-Antigens im Notfall; er liefert relevante Informationen für die Diagnose von Influenza. Der Einsatz des **Directigen EZ Flu A+B**-Tests zur Unterscheidung einer Flu A- von einer Flu B-Infektion bietet die Möglichkeit einer höheren Selektivität bei der antiviralen Behandlung.

## TESTPRINZIP

Beim **Directigen EZ Flu A+B**-Test handelt es sich um einen chromatographischen Assay für den qualitativen Nachweis von Influenza-A- und Influenza-B-Virusantigenen in aufbereiteten Atemwegsproben. Wenn Proben aufbereitet und in die Testvorrichtung gegeben werden, werden Influenza-A- oder Influenza-B-Virusantigene an Anti-Influenza-Antikörper gebunden, die zur Visualisierung an Partikel in den entsprechenden A- und B-Teststreifen konjugiert wurden. Der Antigen-Konjugat-Komplex wandert auf dem Teststreifen zum Reaktionsbereich und wird auf der Membran von der Linie aus Antikörper erfasst. Ein positives Ergebnis für Influenza A wird als eine rot-violette Linie an der Testposition „T“ und der Kontrollposition „C“ im **Directigen EZ Flu A**-Ergebnisfenster sichtbar gemacht. Ein positives Ergebnis für Influenza B wird als eine rot-violette Linie an der Testposition „T“ und der Kontrollposition „C“ im **Directigen EZ Flu B**-Ergebnisfenster sichtbar gemacht.

## REAGENZIEN

Das **Directigen EZ Flu A+B**-Kit umfasst die folgenden Komponenten:

<b>BD Flu A+B</b> Vorrichtungen	30 Vorrichtungen	Vorrichtung in Folienverpackung mit zwei reaktiven Streifen. Jeder Streifen umfasst eine Testlinie aus monoklonalem Antikörper, der entweder spezifisch auf Flu A- oder Flu B-Influenza-Virusantigenen reagiert, sowie eine Kontrolllinie aus Antikörper, der auf eine Spezies reagiert.
Reagenz E	4,7 mL	Reinigungsmittel, mit 0,2 % Natriumazid (Konservierungsmittel).
Kontrollabstrichtupfer Flu A+/B-	1	Flu A-Positiv- und Flu B-Negativkontrolle, Influenza-A-Antigen (inaktives rekombinantes Nukleoprotein) mit < 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).
Kontrollabstrichtupfer Flu B+/A-	1	Flu B-Positiv- und Flu A-Negativkontrolle, Influenza-B-Antigen (inaktives rekombinantes Nukleoprotein) mit < 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).
<b>DispensTube</b> -Röhrchen	30	Röhrchen für die Probenaufbereitung und die Abgabe der Probe in die Vorrichtungen.
<b>DispensTube</b> -Spitzen	30	Spitzen zum Filtrieren der Probe bei der Abgabe in die Vorrichtungen.

**Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Material:** Pipette (für 300 µL), Timer, Vortexmischer, Transportmedien (siehe "Probenentnahme und -handhabung"), physiologische Kochsalzlösung und Abstrichtupfer.

## Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

*In-vitro*-Diagnostikum.

1. Wenn basierend auf aktuellen klinischen und epidemiologischen, von Gesundheitsbehörden empfohlenen Screening-Kriterien Verdacht auf eine Infektion mit einem neuartigen Influenza-A-Virus besteht, sind Proben unter angemessenen Infektionskontrollmaßnahmen für neuartige virulente Influenzaviren zu entnehmen und zum Testen an das örtliche oder Landesgesundheitsamt zu schicken. Eine Viruskultur in diesem Fall nur versuchen, wenn ein Labor mit Biosicherheitsstufe 3+ (BSL 3+) Proben empfangen und kultivieren kann.
2. Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen wie z.B. Hepatitis-Viren, HIV und neuartige Influenzaviren enthalten. Bei der Handhabung, Aufbewahrung und Entsorgung aller Proben und aller durch Blut oder andere Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikel sind die "Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen"<sup>15-18</sup> sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.
3. Reagenzien enthalten Natriumazid, das bei Einatmen, Verschlucken oder Kontakt mit der Haut gesundheitsgefährdend ist. Bei Kontakt mit Säuren entstehen hochgiftige Gase. Bei Hautkontakt sofort mit reichlich Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Ansammlungen von Azid zu vermeiden.
4. Kitkomponenten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
5. Ausschließlich Reagenzien derselben Chargen-Nr. verwenden.
6. Die Vorrichtung nicht wieder verwenden.
7. Das Kit nicht verwenden, wenn die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern.

**Lagerung und Handhabung:** Die Kits können bei 2–25 °C aufbewahrt werden. NICHT EINFRIEREN. Reagenzien und Vorrichtungen müssen Raumtemperatur haben (15–25 °C), wenn Sie für Tests verwendet werden.

## ENTNAHME UND HANDHABUNG DER PROBEN

### Transport und Aufbewahrung von Proben:

Frische Proben sollten umgehend aufbereitet werden. Bei Bedarf können Proben (außer Rachenabstriche) in einem geeigneten Transportmedium bei 2–8 °C bis zu 72 h oder bei -20 °C bis zu 7 Tage aufbewahrt werden.

Die Einhaltung der korrekten Entnahme- und Vorbereitungsverfahren für die Proben ist unerlässlich. Proben vor Gebrauch nicht zentrifugieren, da das Entfernen der zellulären Bestandteile die Sensibilität des Test negativ beeinflussen kann. Proben, die im Frühstadium der Krankheit entnommen wurden, enthalten die höchsten viralen Titer.

**Transportmedien:** Die folgenden Transportmedien wurden geprüft und als für den **Directigen EZ Flu A+B-Test** geeignet befunden:

Amies-Medium (flüssig)	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung + 0,5 % Rinderserumalbumin
Bartels ViraTrans-Medium	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung + 0,5 % Gelatine
Earle's Minimal Essential Medium (EMEM)	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
EMEM 0,5 % Rinderserumalbumin	Starplex Multitrans
EMEM 1 % Rinderserumalbumin	Saccharose-Phosphat (2-SP)
Gepufferte Salzlösung nach Hanks	<b>Trypticase</b> -Soja-Bouillon
M4-Medium	<b>Trypticase</b> -Soja-Bouillon + 0,5 % Gelatine
M4 RT-Medium	<b>Trypticase</b> -Soja-Bouillon + 0,5 % Rinderserumalbumin
M5-Medium	<b>BD</b> virales Universal-Transport-Medium
Stuart-Medium, modifiziert (flüssig)	Nährbouillon-Infusion vom Kalb (VIB)
Physiologische Kochsalzlösung*	VIB mit 0,5 % Rinderserumalbumin (BSA)

\*Gefrorene, in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrte Proben sind zur Verwendung mit dem **Directigen EZ Flu A+B-Test** nicht zu empfehlen.

Nach Durchführung eines entsprechenden Qualifizierungsverfahren können auch andere Transportmedien verwendet werden.

**HINWEIS:** EMEM-Medien mit Lactalbumin (d. h. 0,5 % oder 1,0 %) oder andere Transportmedien mit Lactalbumin sind nicht mit dem **Directigen EZ Flu A+B-Test** kompatibel.

**Probenentnahme und -vorbereitung:** Zu den geeigneten Proben für den **Directigen EZ Flu A+B-Test** zählen Nasopharyngeal-Spülungen/-Aspirate sowie Nasopharyngeal- und Rachenabstriche. Unzulängliche Probenentnahme, inkorrekte Probenhandhabung und/oder inkorrekt Transport können zu einem falsch negativen Ergebnis führen. Aufgrund der Wichtigkeit der Probenqualität für korrekte Testergebnisse wird aus diesem Grund die Schulung in der Probenentnahme dringend empfohlen.

### Vorgehen bei der Probenentnahme als Nasopharyngeal-Spülung/-Aspirat sowie Nasopharyngeal-Abstrich:

1. Für Nasopharyngeal-Spülungen/-Aspirate beträgt das empfohlene Probenvolumen 1–3 mL. Bei Verwendung eines Transportmediums wird eine minimale Verdünnung der Probe bevorzugt.
2. Übermäßig große Spülvolumina sind zu vermeiden, da sie die Testempfindlichkeit beeinträchtigen können.
3. Geben Sie bei Nasopharyngeal-Abstrichen nach der Entnahme den Tupfer in 1–3 mL Transportmedium.
4. Die Probe wie unter „Testverfahren“ beschrieben weiterverarbeiten.

### Vorgehen bei der Probenentnahme als Rachenabstrich (Tupfer mit Polyurethanspitze [Schaumstoff] werden empfohlen – siehe Abschnitt „Lieferbare Produkte“):

1. Rachenabstrichproben müssen ohne Transportmedium weiterverarbeitet werden, wie unter "Testverfahren" beschrieben.

## METHODE

### Testverfahren

#### HINWEISE:

- Die Reagenzien, Proben und Vorrichtungen müssen zur Testdurchführung Zimmertemperatur aufweisen (15–25 °C).
- Vor der Entnahme einer Teilmenge für die Aufbereitung alle Proben gut durchmischen. **Proben nicht zentrifugieren.**
- **DispensTube**-Röhrchen und Reagenzfläschchen sind senkrecht zu halten (in ca. 2,5 cm Abstand über dem Testfeld der **Directigen EZ Flu A+B**-Vorrichtung bzw. zum **DispensTube**-Röhrchen) und die Tropfen behutsam einzeln abzugeben.
  1. Unmittelbar vor der Testdurchführung die **Directigen EZ Flu A+B**-Vorrichtung aus ihrer Folienpackung nehmen.
  2. Eine Vorrichtung und ein **DispensTube**-Röhrchen mit der jeweiligen zu testenden Kontrolle und Probe beschriften.
  3. Das bzw. die so gekennzeichnete(n) **DispensTube**-Röhrchen im vorgesehenen Bereich der Arbeitsstation oder des Ständers platzieren.

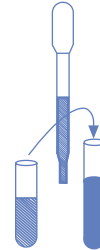
4. Reagenz E behutsam mischen. 4 Tropfen in das **DispensTube**-Röhrchen geben. Reagenzfläschchen senkrecht halten (in ca. 2,5 cm Abstand über dem **DispensTube**-Röhrchen) und die Tropfen abgeben.



5. Die Proben oder Kontrollen wie im Folgenden beschrieben verarbeiten:

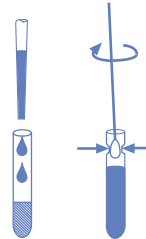
a. Für Proben aus **Nasopharyngeal-Spülungen/-Aspiraten** und **Nasopharyngeal-Abstrichen** in Transportmedien:

1. Probe im Vortexmischer oder auf sonstige Weise gut durchmischen. **Nicht zentrifugieren**.
2. 300 µL Probenflüssigkeit in ein **DispensTube**-Röhrchen (mit Reagenz E) pipettieren.



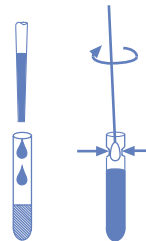
b. Für Proben aus **Rachenabstrichen**:

1. 300 µL physiologische Kochsalzlösung in das **DispensTube**-Röhrchen (mit Reagenz E) geben.
2. Abstrichtupfer zugeben und ausdrücken. Dabei Tupfer 6-8 Mal hin und her drehen und gleichzeitig das Röhrchen zusammendrücken.
3. Tupfer entnehmen und gleichzeitig das Röhrchen zusammendrücken, um überschüssige Flüssigkeit von der Tupferspitze zu entfernen.



c. Für Kitkontrollen:

1. 300 µL physiologische Kochsalzlösung in das **DispensTube**-Röhrchen (mit Reagenz E) geben.
2. Kontrollabstrichtupfer zugeben und ausdrücken. Dabei Tupfer 6-8 Mal hin und her drehen und gleichzeitig das Röhrchen zusammendrücken.
3. Kontrollabstrichtupfer entnehmen und gleichzeitig das Röhrchen zusammendrücken, um überschüssige Flüssigkeit von der Tupferspitze zu entfernen.



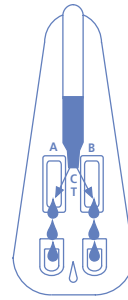
6. Auf dem **DispensTube**-Röhrchen mit der aufbereiteten Probe oder Kontrolle eine **DispensTube**-Spitze anbringen.

**Hinweis:** Keine Spitzen anderer Directigen-Produkte verwenden.



7. Auf dem Vortexmischer oder auf sonstige Weise gut durchmischen.

8. Das **DispensTube**-Röhrchen umdrehen und in der oberen Hälfte fassen (nicht im Spitzenbereich); behutsam drei (3) Tropfen der aufbereiteten Probe in das Flu A-Testfeld sowie drei (3) Tropfen in das Flu B-Testfeld der entsprechend beschrifteten **Directigen** EZ Flu A+B-Vorrichtung auspressen. Für die einwandfreie Abgabe sind die **DispensTube**-Röhrchen senkrecht zu halten (in ca. 2,5 cm Abstand zum Testfeld der BD Flu A+B-Vorrichtung) und die Tropfen behutsam einzeln und rasch hintereinander abzugeben.



**Anmerkungen:** Wird das Röhrchen im Spitzenbereich zusammengedrückt, kann dies zum Ausstoßen der Spitze und zum Auslaufen des Röhrcheninhalts führen.

9. 15 Min nach Zugabe der Probe das Ergebnis ablesen und das Testergebnis protokollieren.

#### Qualitätskontrolle:

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten.

Jede **Directigen** EZ Flu A+B-Vorrichtung enthält sowohl positive als auch negative interne Kontrollen/Verfahrenskontrollen:

- Das Erscheinen einer rot-violetten Kontrolllinie im Flu A- und/oder Flu B-Ergebnisfenster an Kontrollposition „C“ dient als positive interne Kontrolle zur Bestätigung der ordnungsgemäßen Reaktionsfähigkeit der Reagenzien und der korrekten Durchführung des Tests.
- Der Membranbereich um den Flu A- und/oder Flu B-Test sowie die Kontrolllinien dient als interne negative Kontrolle für das Gerät. Ein weißer bis hellrosa Hintergrund weist darauf hin, dass der Test korrekt durchgeführt wurde.

Jedes **Directigen** EZ Flu A+B-Kit enthält Abstrichtupferkontrolle A+/B- und Abstrichtupferkontrolle B+/A-:

Diese Kontrollen werden auf die gleiche Weise wie Patientenproben getestet und dienen als externe Qualitätskontrolle. Diese Kontrollen sollten zumindest für jedes neue Kit und jede eingegangene Lieferung als Qualitätskontrolle analysiert werden. Bei Bedarf können die Reagenzienleistung und die korrekte Testdurchführung auch anhand von Proben ermittelt werden, die als positiv oder negativ für das Virus Influenza A oder B qualifiziert wurden.

Die Ausbildung einer rot-violetten Linie auf der Membran im Flu A-Ergebnisfenster an der Testposition („T“) und Kontrollposition („C“) bei Testen der Kontrolle A+/B- sowie im Flu B-Ergebnisfenster an der Testposition („T“) und Kontrollposition („C“) bei Testen der Kontrolle B+/A- bestätigt, dass die Influenza-Antigen-Bindungsfähigkeit des Teststreifens funktionstüchtig ist.

Die Ausbildung einer rot-violetten Kontrolllinie an der Kontrollposition („C“) im Flu B-Ergebnisfenster sowie das Fehlen einer rot-violetten Testlinie an der Testposition („T“) bei Verwendung der Kontrolle A+/B- ist ein angemessenes negatives Kontrollergebnis für Flu B, das eine ordnungsgemäße Reaktionsfähigkeit der Reagenzien und die korrekte Durchführung des Tests bestätigt. Ebenso ist die Ausbildung einer rot-violetten Kontrolllinie an der Kontrollposition („C“) im Flu A-Ergebnisfenster sowie das Fehlen einer rot-violetten Testlinie an der Testposition („T“) bei Verwendung der Kontrolle B+/A- ein angemessenes negatives Kontrollergebnis für Flu A.

Falls die Kitkontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, keine Patientenergebnisse ausgeben. Setzen Sie sich in diesem Fall bitte mit Ihrem BD-Vertreter oder dem zuständigen technischen Kundendienst in Verbindung.

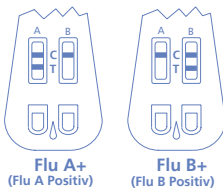
#### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

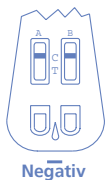
**HINWEIS:** Die Intensität der Kontrolllinie kann im Flu A- und im Flu B-Ergebnisfenster unterschiedlich sein.

Abweichungen in der Intensität der Kontrolllinie sind zulässig. Der Hintergrund sollte weiß bis hellrosa sein, und kann zwischen den Flu A- und Flu B-Ergebnisfenstern eine unterschiedliche Intensität haben.

**Positiver Test für Flu A (Influenza A-Antigen liegt vor)** – Eine rot-violette Linie erscheint an der Testposition „T“ und der Kontrollposition „C“ im **Directigen** EZ Flu A-Ergebnisfenster. Dieses Ergebnis identifiziert keinen spezifischen Subtypen des Influenza-A-Virus. Außerdem sollte an der Kontrollposition „C“ im **Directigen** EZ Flu B-Ergebnisfenster eine rot-violette Linie zu sehen sein. Dies bedeutet, dass in der Probe Influenza-A-Antigen nachweisbar war. Der Hintergrund sollte weiß bis hellrosa sein.

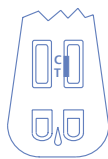
**Positiver Test für Flu B (Influenza B-Antigen liegt vor)** – Eine rot-violette Linie erscheint an der Testposition „T“ und der Kontrollposition „C“ im **Directigen** EZ Flu B-Ergebnisfenster. Außerdem sollte an der Kontrollposition „C“ im **Directigen** EZ Flu A-Ergebnisfenster eine rot-violette Linie zu sehen sein. Dies bedeutet, dass in der Probe Influenza-B-Antigen nachweisbar war. Der Hintergrund sollte weiß bis hellrosa sein.



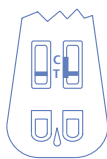


Negativ

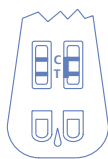
**Negativer Test für Flu A oder Flu B (kein Antigen nachgewiesen)** – An der Testposition „T“ ist weder im Flu A- noch im Flu B-Ergebnisfenster eine rot-violette Linie sichtbar. Dies bedeutet, dass weder Influenza-A-Antigen noch Influenza-B-Antigen in der Probe nachgewiesen werden konnte. Diese Ergebnisse schließen eine Influenzavirusinfektion nicht aus. Eine rot-violette Linie an der Kontrollposition „C“ in beiden Ergebnisfenstern bestätigt die korrekte Testdurchführung und eine angemessene Reagenzienleistung. Der Hintergrund sollte weiß bis hellrosa sein.



Ungültig



Ungültig



Ungültig

**Ungültiger Test** – Der Test ist ungültig, wenn weder für Flu A noch für Flu B im jeweiligen Ergebnisfenster eine rot-violette Linie neben der Kontrollposition „C“ sichtbar ist. Der Test ist auch ungültig, wenn in beiden Ergebnisfenstern (sowohl Flu A als auch Flu B) eine rot-violette Linie an der Testposition „T“ erscheint. Ein ungültiger Test ist zu wiederholen.

## DOKUMENTATION DER TESTERGEBNISSE

<b>Positiver Test</b>	Positiv für das Vorliegen von Influenza-A- oder Influenza-B-Antigen. Ein positives Ergebnis kann auftreten, selbst wenn keine lebensfähigen Viren vorhanden sind.
<b>Negativer Test</b>	Negativ für das Vorliegen von Influenza-A- oder Influenza-B-Antigen. Das Vorliegen einer Infektion mit Influenza kann nicht ausgeschlossen werden, da in der Probe Antigen in einer Menge unterhalb der Nachweisgrenze vorhanden sein könnte. Es wird empfohlen, negative Proben durch eine Kultur zu bestätigen.
<b>Ungültiger Test</b>	Der Test ist ergebnislos. Keine Ergebnisse berichten.

## VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Durch andere Erreger als Influenza A oder Influenza B verursachte Atemwegsinfektionen können mit diesem Test nicht nachgewiesen werden. Mit dem **Directigen EZ Flu A+B-Test** können sowohl vermehrungsfähige als auch nicht vermehrungsfähige Influenza-Partikel nachgewiesen werden. Die Leistungsfähigkeit des **Directigen EZ Flu A+B-Tests** hängt von der Antigenmenge ab und korreliert nicht unbedingt mit den Ergebnissen einer von derselben Probe angelegten Zellkultur.
- Eine geringe Virusabscheidung kann zu einem falsch negativen Ergebnis führen. Daher schließt ein negatives Testergebnis das Vorliegen einer möglichen Infektion mit Influenza A oder Influenza B bzw. sowohl mit Influenza A als auch mit Influenza B nicht aus.
- Die Eignung des **Directigen EZ Flu A+B-Tests** für die Identifizierung oder Bestätigung von Isolaten aus Zellkulturen ist nicht erwiesen.
- Die Leistungsmerkmale für Influenza A wurden ermittelt, als Influenza A/H3 und A/H1 die vorherrschenden Influenza-A-Viren in Zirkulation waren. Die Leistungsmerkmale können abweichen, wenn andere Influenza-A-Viren auftreten.
- Im Vergleich zu Erwachsenen tendieren Kinder zu länger andauernden Virusabscheidungen, was zu Unterschieden in der Empfindlichkeit zwischen Erwachsenen und Kindern führen kann.
- Positive und negative Vorhersagewerte sind in starkem Maße von der Prävalenz abhängig. Falsch positive Testergebnisse sind in Perioden mit geringer Influenzaaktivität wahrscheinlicher, wenn die Prävalenz mäßig bis gering ist.

## ZU ERWARTENDE ERGEBNISSE

Die Anzahl der positiven Testergebnisse bei Verwendung von Atemwegsproben ist abhängig von der Probenentnahmemethode, dem verwendeten Handhabungs-/Transportsystem, der angewandten Nachweismethode, der Jahreszeit, dem Patientenalter, der geografischen Region und vor allem dem lokalen Krankheitsvorkommen. Die im Rahmen der klinischen Studie 2003/2004 bei Kulturen beobachtete Häufigkeit betrug 24,3 % für Influenza A und 3,8 % für Influenza B. In der klinischen Studie 2004/2005 betrug sie 26,0 % für Influenza A und 31,2 % für Influenza B. Die 2006 im Rahmen der klinischen Studie bei Kulturen beobachtete Häufigkeit lag bei 33,9 % für Influenza A und bei 0,2 % für Influenza B.

## LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsmerkmale des **Directigen EZ Flu A+B-Tests** wurden im Rahmen einer in der Erkältungssaison 2003/2004 an 5 Studienzentren, 2004/2005 an 13 Studienzentren und 2006 an 2 Studienzentren durchgeführten Studie ermittelt. Diese klinischen Zentren befanden sich in verschiedenen geografischen Regionen der USA, Japan, in Hongkong und Neuseeland.

Es wurden insgesamt 1191 prospektive Proben und 59 retrospektive Proben mit dem **Directigen EZ Flu A+B-Test** und einer Zellkultur evaluiert. Diese Proben bestanden aus nasopharyngealen Spülungs- und Aspiratproben sowie Nasopharyngeal- und Rachenabstrichen von Patienten mit Verdacht auf Influenza.

### Klinische Leistung:

Die Leistungsmerkmale des **Directigen EZ Flu A+B-Tests** im Vergleich zur Zellkultur werden für die jeweilige Probenart in Tabelle 1 und Tabelle 6 dargestellt.

**Tabelle 1: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ Flu A+B-Tests im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für alle Probenarten – Influenza A, Erkältungssaison 2003/2004, 2004/2005 und 2006 kombiniert**

Probenart	Directigen EZ Flu A+B	Zellkultur	
		P	N
Nasopharyngeal-Spülungen/-Aspirate	P	115	2
	N	19	330
Empfindlichkeit: 86 % (95 %-VI: 79 % bis 91 %) Spezifität: 99 % (95 %-VI: 98 % bis 100 %)			
Rachenabstriche	P	43	29
	N	13	184
Empfindlichkeit: 77 % (95 %-VI: 64 % bis 87 %) Spezifität: 86 % (95 %-VI: 81 % bis 91 %)			
Nasopharyngeal-Abstriche	P	146	20
	N	15	275
Empfindlichkeit: 91 % (95 %-VI: 85 % - 95 %) Spezifität: 93 % (95 %-VI: 90 % - 96 %)			

**Tabelle 2: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ Flu A+B-Tests im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für alle Probenarten – Influenza B, Erkältungssaison 2003/2004, 2004/2005 und 2006 kombiniert**

Probenart	Directigen EZ Flu A+B	Zellkultur	
		P	N
Nasopharyngeal-Spülungen/-Aspirate	P	57	1
	N	14	394
Empfindlichkeit: 80 % (95 %-VI: 69 % bis 89 %) Spezifität: 100 % (95 %-VI: 99 % bis 100 %)			
Rachenabstriche	P	38	3
	N	17	211
Empfindlichkeit: 69 % (95 %-VI: 55 % bis 81 %) Spezifität: 99 % (95 %-VI: 96 % bis 100 %)			
Nasopharyngeal-Abstriche	P	1	0
	N	0	455
Empfindlichkeit: 100 % (95 %-VI: 3 % - 100 %) Spezifität: 100 % (95 %-VI: 99 % - 100 %)			

**Tabelle 3: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ Flu A+B-Tests im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für retrospektive Nasopharyngeal-Abstriche - Influenza B, Erkältungssaison 2005**

Probenart	Directigen EZ Flu A+B-Test	Zellkultur	
		P	N
Nasopharyngeal-Abstriche	P	32	0
	N	11	16
Positive Übereinstimmung: 74 % (95 %-VI: 59 % - 87 %) Negative Übereinstimmung: 100 % (95 %-VI: 79 % - 100 %)			

**Tabelle 4: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ Flu A+B-Tests im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für alle Probenarten nach Population - Influenza A, Erkältungssaison 2003/2004, 2004/2005 und 2006 kombiniert**

Probenart	Directigen EZ Flu A+B Test	Zellkultur			
		Pädiatrie (≤ 21 Jahre)		Erwachsene (> 21 Jahre)	
		P	N	P	N
Nasopharyngeale Spülungen-/Aspirate	P	94	2	21	0
	N	11	294	8	36
Empfindlichkeit: Pädiatrie: 90 % (95 %-VI: 82 % - 95 %); Erwachsene: 72 % (95 %-VI: 53 % - 87 %) Spezifität: Pädiatrie: 99 % (95 %-VI: 98 % - 100 %); Erwachsene: 100 % (95 %-VI: 90 % - 100 %)					
Rachenabstriche	Directigen EZ Flu A+B Test	Pädiatrie (≤ 21 Jahre)		Erwachsene (> 21 Jahre)	
		P	N	P	N
		P	38	23	5
N	10	151	3	33	
Empfindlichkeit: Pädiatrie: 79 % (95 %-VI: 65 % - 90%); Erwachsene: 63 % (95 %-VI: 24 % - 91 %) Spezifität: Pädiatrie: 87 % (95 %-VI: 81 % - 91 %); Erwachsene: 85 % (95 %-VI: 69 % - 94 %)					
Nasopharyngeal-Abstriche	Directigen EZ Flu A+B-Test	Pädiatrie (≤ 21 Jahre)		Erwachsene (> 21 Jahre)	
		P	N	P	N
		P	62	11	84
N	6	84	9	191	
Empfindlichkeit: Pädiatrie: 91 % (95 %-VI: 82 % - 97 %); Erwachsene: 90 % (95 %-VI: 82 % - 96 %) Spezifität: Pädiatrie: 88 % (95 %-VI: 80 % - 94 %); Erwachsene: 96 % (95 %-VI: 92 % - 98 %)					

**Tabelle 5: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ Flu A+B-Tests im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für alle Probenarten nach Population – Influenza B, Erkältungssaison 2003/2004, 2004/2005 und 2006 kombiniert**

Probenart	Directigen EZ Flu A+B Test	Zellkultur			
		Pädiatrie (≤ 21 Jahre)		Erwachsene (> 21 Jahre)	
		P	N	P	N
Nasopharyngeale Spülungen-/Aspirate	P	49	1	8	0
	N	13	338	1	56
Empfindlichkeit: Pädiatrie: 79 % (95 %-VI: 67 % - 88 %); Erwachsene: 89 % (95 %-VI: 52 % - 100 %) Spezifität: Pädiatrie: 100 % (95 %-VI: 98 % - 100 %); Erwachsene: 100 % (95 %-VI: 94 % - 100 %)					
Rachenabstriche	Directigen EZ Flu A+B Test	Pädiatrie (≤ 21 Jahre)		Erwachsene (> 21 Jahre)	
		P	N	P	N
		P	19	1	19
N	12	190	5	21	
Empfindlichkeit: Pädiatrie: 61 % (95 %-VI: 42 % - 78%); Erwachsene: 79 % (95 %-VI: 58 % - 93 %) Spezifität: Pädiatrie: 99 % (95 %-VI: 97 % - 100 %); Erwachsene: 91 % (95 %-VI: 72 % - 99 %)					
Nasopharyngeal-Abstriche	Directigen EZ Flu A+B Test	Pädiatrie (≤ 21 Jahre)		Erwachsene (> 21 Jahre)	
		P	N	P	N
		P	0	0	1
N	0	163	0	292	
Empfindlichkeit: Pädiatrie: Keine Berechnung der Empfindlichkeit; Erwachsene: 100 % (95 %-VI: 3 % - 100 %) Spezifität: Pädiatrie: 100 % (95 %-VI: 98 % - 100 %); Erwachsene: 100 % (95 %-VI: 99 % - 100 %)					

**Tabelle 6: Zusammenfassung der Leistung des Directigen EZ Flu A+B-Tests im Vergleich zur Kultivierung (Kultur) für retrospektive Nasopharyngeal-Abstriche nach Population - Influenza B, Erkältungssaison 2005**

Probenart	Directigen EZ Flu A+B Test	Zellkultur			
		Pädiatrie (≤ 21 Jahre)		Erwachsene (> 21 Jahre)	
		P	N	P	N
Nasopharyngeal-Abstriche	P	20	0	12	0
	N	6	10	5	6
Positive Übereinstimmung: Pädiatrie: 77 % (95 %-VI: 56 % - 91 %); Erwachsene: 71 % (95 %-VI: 44 % - 90 %) Negative Übereinstimmung: Pädiatrie: 100 % (95 %-VI: 69 % - 100 %); Erwachsene: 100 % (95 %-VI: 54 % - 100 %)					

**Reproduzierbarkeit:** Die Reproduzierbarkeit des Directigen EZ Flu A+B-Tests wurde an vier Standorten überprüft. Das Reproduzierbarkeitsprofil bestand aus 20 simulierten Influenza-Proben. Diese Proben umfassten schwach positive Flu

A- oder Flu B-Proben (nahe der Nachweisgrenze des Tests), mäßig positive Flu A- oder Flu B-Proben und negative Proben. Die gesamte Reproduzierbarkeit des **Directigen** EZ Flu A+B-Tests lag bei 99,6 %.

## Analytische Studien

### Testempfindlichkeit (Nachweisgrenze)

Die Nachweisgrenze des **Directigen** EZ Flu A+B-Tests wurde anhand von insgesamt 17 Influenza-Stämmen, davon 11 Influenza-A und 6 Influenza-B, ermittelt.

Typ	Influenza-Virusstamm	Nachweisgrenze (CEID <sub>50</sub> /mL)*	Nachweisgrenze (TCID <sub>50</sub> /mL)**
A	A/PR/8/34 (H1N1)	1,75 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A/FM/1/47 (H1N1)	1,98 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/NWS/33 (H1N1)	1,00 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A1/Denver/1/57 (H1N1)	5,56 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/New Jersey/8/76 (H1N1)	4,45 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	1,00 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>2</sup>	–
A	A2/Aichi2/68 (H3N2)	3,50 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Victoria/3/75 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A/California/04/09 (H1N1)	–	5,37 X 10 <sup>2</sup>
A	A/California/07/09 (H1N1)	–	1,86 X 10 <sup>3</sup>
B	B/Lee/40	6,95 X 10 <sup>5</sup>	–
B	B/Allen/45	2,00 X 10 <sup>3</sup>	–
B	B/GL/1739/54	5,56 X 10 <sup>3</sup>	–
B	B/Taiwan/2/62	3,50 X 10 <sup>2</sup>	–
B	B/Maryland/1/59	2,23 X 10 <sup>4</sup>	–
B	B/Hong Kong/5/72	2,23 X 10 <sup>4</sup>	–

\* CEID<sub>50</sub>/mL = Hühnerembryo-Infektionsdosis, bei der 50 % der Embryos sterben

\*\*TCID<sub>50</sub>/mL = Gewebekultur-Infektionsdosis, 50 %

Obwohl dieser Test erwiesenermaßen das von einer positiven humanen Atemwegsprobe kultivierte 2009 H1N1-Virus ermittelt, wurden die Leistungsmerkmale dieses Geräts noch nicht mit klinischen Proben bestätigt, die als positiv für das 2009 H1N1-Influenza-Virus qualifiziert wurden. **BD Directigen** EZ Flu A+B kann zwischen den Influenza-Viren A und B, jedoch nicht zwischen Influenza-Subtypen unterscheiden.

### Analytische Spezifität (Kreuzreaktion)

Der **Directigen** EZ Flu A+B-Test wurde unter Verwendung von insgesamt 98 Mikroorganismen beurteilt. Dabei wurden 51 Bakterien und zwei Hefepilze in einer Konzentration von ~10<sup>8</sup> KBE/mL getestet (KBE = koloniebildende Einheiten). *Mycoplasma pneumoniae* und *Mycoplasma orale* wurden in Konzentrationen von > 10<sup>6</sup> bzw. > 10<sup>7</sup> CCU/mL getestet (CCU – Color Changing Units, Farbumschlagseinheiten). Die drei Mykobakterienstämme wurden mit 10<sup>7</sup> KBE/mL beimpft und *Chlamydia trachomatis* LGVII wurde mit 2,5 X 10<sup>8</sup> EK/mL getestet (EK = Elementarkörperchen). Die 39 getesteten Viren wurden in Konzentrationen von 10<sup>4</sup> bis 10<sup>9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (TCID<sub>50</sub> – Gewebekultur-Infektionsdosis, bei der 50 % der Zellen lysiert werden) oder 10<sup>4</sup> bis 10<sup>8</sup> CEID<sub>50</sub>/mL untersucht (CEID<sub>50</sub> – Hühnerembryo-Infektionsdosis, bei der 50 % der Embryos infiziert waren). Alle Mikroorganismen (außer Influenza-Viren) ergaben negative Flu A und Flu B Testergebnisse. Die getesteten Influenza A-Viren (n = 2) ergaben mit Flu A positive und Flu B negative Testergebnisse. Die getesteten Influenza B-Viren (n = 6) ergaben mit Flu B positive und Flu A negative Testergebnisse.

<i>Acinetobacter baumannii</i> (calcoaceticus)	<i>Neisseria meningitidis</i>	Coxsackievirus Typ A9 (Griggs)
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Coxsackievirus Typ A9 (P.B. Bozek)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Coxsackievirus Typ B5 (Faulkner)
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Coxsackievirus Typ B6 (Schmitt)
<i>Candida albicans</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Coxsackievirus Typ A21 (Kuykendall)
<i>Candida glabrata</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	Cytomegalovirus (AD-169)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Prevotella oralis</i>	Echovirus Typ 2 (Cornelis)
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Proteus mirabilis</i>	Echovirus Typ 3 (Morrisey)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	Echovirus Typ 6 (D'Amori)
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HSV Typ 1 (HF)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	HSV Typ 2 (MS)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	sub <i>minnesota</i>	Influenza A/PR/8/34 (H1N1)
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	Influenza A/Victoria/3/75 (H3N2)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Influenza B/Hong Kong/5/72
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> -Cowan 1	Influenza B/Lee/40
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II Gruppe D	Influenza B/Allen/45
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Influenza B/GL/1739/54
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	Influenza B/Maryland/1/59
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	Influenza B/Taiwan/2/62
<i>Kingella kingae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Masern-Virus (Edmonston)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> group A	Mumps-Virus (Enders)
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	Parainfluenza Typ 1 (Sendia/52)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Gruppe B	Parainfluenza Typ 2 (Greer)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Gruppe C	Parainfluenza Typ 3 (C243)

<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Gruppe F	Rhinovirus Typ 1A (2060)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Gruppe G	Rhinovirus Typ 2 (HGP)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>	Rhinovirus Typ 13 (353)
<i>Mycobacterium avium</i>	Adenovirus, Typ 3 (GB)	Rhinovirus Typ 15 (1734)
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Adenovirus, Typ 5 (Adenoid 75)	Rhinovirus Typ 16 (11757)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Adenovirus, Typ 7 (Gomen)	Rhinovirus v 37 (151-1)
<i>Mycoplasma orale</i>	Adenovirus, Typ 10 (J.J.)	RSV Typ A (Long)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adenovirus, Typ 18 (D. C.)	RSV Typ B (Wash/18537/62)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Coronavirus (229E)	VZV (Ellen)

#### Reaktivität der Virusstämme Influenza A und B

Der **Directigen** EZ Flu A+B-Test wurde unter Verwendung eines Panels von 39 Influenzastämmen beurteilt. Alle bekannten Hämagglutinin- (15) und Neuraminidase-Subtypen (9) der Influenza A waren in diesem Panel vertreten. Alle menschlichen und tierischen Influenza-A-Stämme wiesen positive Flu A-Testergebnisse und negative Flu B-Testergebnisse auf. Dagegen wiesen alle Influenza-B-Stämme positive Flu B-Testergebnisse und negative Flu A-Testergebnisse auf.

Influenza-Virus (menschlicher Stamm)	Virus Typ	Influenza-Virus (tierischer Stamm)	Virus Typ
A/NWS/33	A (H1N1)	A/Turkey/Kansas/4880/80	A (H1N1)
A/PR/8/34	A (H1N1)	A/Mallard/New York/6750/78	A (H2N2)
A1/FM/1/47	A (H1N1)	A/Turkey/England/69	A (H3N2)
A1/Denver/1/57	A (H1N1)	A/Chicken/Alabama/75	A (H4N8)
A/New Jersey/8/76 (Hsw N1)	A (H1N1)	A/Turkey/Wisconsin/68	A (H5N9)
A/Port Chalmers/1/73	A (H3N2)	A/Turkey/Canada/63	A (H6N8)
A/Victoria/3/75	A (H3N2)	A/Turkey/Oregon/71	A (H7N3)
A/Vietnam/3028/04	A (H5N1)	A/Turkey/Ontario/6118/67	A (H8N4)
A/Thailand/MK2/04	A (H5N1)	A/Turkey/Wisconsin/66	A (H9N2)
A/Hong Kong/486/97	A (H5N1)	A/Chicken/Germany/N/49	A (H10N7)
A/California/07/2004	A (H3N2)	A/Duck/Memphis/546/74	A (H11N9)
A/California/04/09	A (H1N1)	A/Duck/Alberta/60/76	A (H12N5)
A/California/07/09	A (H1N1)	A/Gull/MD/704/77	A (H13N6)
B/Lee/40	B	A/Mallard/Gurjev/263/82	A (H14N5)
B/Allen/45	B	A/Shearwater/WA/2576/79	A (H15N6)
B/GL/1739/54	B		
B/Maryland/1/59	B		
B/Taiwan/2/62	B		
B/Mass/3/66	B		
B/Hong Kong/5/72	B		
B/Victoria/504/00	B		
B/Tokyo/53/99	B		
B/Quingdao/102/91	B		
B/Leningrad/86/93	B		

**HINWEIS:** Leistungsmerkmale zum Nachweis von Influenza-A-Viren in Humanproben, wenn Non-A/H3- und Non-A/H1-Influenza-A-Virus-Subtypen als Humanpathogene auftreten, wurden nicht ermittelt.

Obwohl dieser Test erwiesenermaßen das von einer positiven humanen Atemwegprobe kultivierte 2009 H1N1-Virus ermittelt, wurden die Leistungsmerkmale dieses Geräts noch nicht mit klinischen Proben bestätigt, die als positiv für das 2009 H1N1-Influenza-Virus qualifiziert wurden. **BD Directigen** EZ Flu A+B kann zwischen den Influenza-Viren A und B, jedoch nicht zwischen Influenza-Subtypen unterscheiden.

#### Störsubstanzen

Es wurden verschiedene Substanzen mit dem **Directigen** EZ Flu A+B-Test analysiert, Diese Substanzen enthielten Vollblut (2 %) und verschiedene Medikamente. Keine der Substanzen störte den Assay.

#### Auswertung der Medikamente

Drei rezeptfreie Mundwässer (25 %)	Pseudoephedrin-HCl (20 mg/mL)
Drei rezeptfreie Rachentropfen (25 %)	Guajacol-Glycerylether (20 mg/mL)
Drei rezeptfreie Nasensprays (10 %)	Ibuprofen (10 mg/mL)
4-Acetamidophenol (10 mg/mL)	Oxymetazolin (0,05 mg/mL)
Acetylsalicylsäure (20 mg/mL)	Phenylephrin (1 mg/mL)
Chlorpheniramin-Maleat (5 mg/mL)	Loratidin (100 ng/mL)
Dextromethorphan (10 mg/mL)	Diphenhydramin-HCl (5 mg/mL)
Fexofenadin (500 ng/mL)	Zanamivir (1 mg/mL)
Amantadin (500 ng/mL)	Rimantadin (500 ng/mL)
Albuterol (0,083 mg/mL)	Oseltamivir (500 ng/mL)
Ribavirin (500 ng/mL)	Synagis (0,1 mg/mL)

## LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
256050	<b>Directigen EZ Flu A+B</b> (Kit mit je 30 Tests)
220144	<b>BBL CultureSwab EZ 100</b> (ein Tupfer) für Proben aus Rachenabstrichen
220115	<b>BBL CultureSwab Sterile Single Swab</b> (ein steriler Tupfer), Karton zu 100
220131	<b>BBL CultureSwab Liquid Amies</b> , flexibler Aluminiumdraht, Karton zu 50
220134	<b>BBL CultureSwab Liquid Stuart</b> , flexibler Aluminiumdraht, Karton zu 50
221819	Physiologische Kochsalzlösung, 5 mL, 100 pro Karton
220220	<b>BD Universal Viral Transport 3 mL</b> Fläschchen, Karton zu 50
220250	Regulär Flocked Swab, steriler Tupfer, einzeln verpackt, Karton zu 100
220251	Minitip Flocked Swab, steriler Tupfer, einzeln verpackt, Karton zu 100
220252	Flexible Flocked Swab, steriler Tupfer, einzeln verpackt, Karton zu 100
256033	<b>Directigen EZ Flu A+B Control Set</b> , Karton zu 10

LITERATUR : "References" im englischen Text.

# **BD Directigen EZ Flu A+B**

## Per la rilevazione diretta differenziata degli antigeni dei virus influenzali A e B

Italiano

### USO PREVISTO

Il test **Directigen EZ Flu A+B** è un dosaggio immunoenzimatico cromatografico rapido per la rilevazione diretta e qualitativa degli antigeni dei virus influenzali A e B da lavaggi/aspirati nasofaringei, tamponi nasofaringei e tamponi faringei di pazienti sintomatici. Il test **Directigen EZ Flu A+B** è differenziato e consente pertanto di distinguere gli antigeni dei virus influenzali A da quelli B a partire da un solo campione trattato, usando un unico dispositivo. Il test è destinato a essere utilizzato come supporto nella diagnosi di infezione da virus influenzale A e B. Confermare tutti i risultati negativi mediante coltura cellulare poiché un risultato negativo non preclude un'infezione da virus influenzale e non deve essere usato come unica base su cui fondare decisioni relative a trattamenti o alla gestione dell'infezione.

Le caratteristiche prestazionali per Influenza B con l'utilizzo di tamponi nasofaringei (NPS), sono state principalmente definite con campioni retrospettivi congelati. Gli utenti possono definire la sensibilità di questo test per Influenza B usando campioni di tamponi nasofaringei freschi.

### SOMMARIO E SPIEGAZIONE

L'influenza è una malattia che si presenta generalmente con improvvisa comparsa di febbre, brividi, cefalea, mialgie e tosse non produttiva. Le epidemie influenzali si verificano di norma nei mesi invernali provocando, negli Stati Uniti, 114.000 ospedalizzazioni<sup>1</sup> e 36.000 decessi<sup>2</sup> annui. I virus dell'influenza possono anche causare pandemie, nel corso delle quali i tassi di morbilità e mortalità dovute a complicanze correlate all'influenza possono aumentare in modo significativo.

I pazienti con sospetta influenza possono beneficiare del trattamento con un agente antivirale, specie se somministrato entro 48 h dalla comparsa della sintomatologia. La differenziazione rapida dell'influenza A dalla B è importante al fine di consentire ai medici l'adozione di un intervento antivirale selettivo. È inoltre essenziale determinare se l'influenza A o B causi malattia sintomatica in una particolare struttura (es. residenza assistita) o comunità allo scopo di adottare misure preventive appropriate per i soggetti suscettibili. Di conseguenza, è fondamentale accertare rapidamente non soltanto l'eventuale presenza di influenza ma anche il tipo di virus influenzale presente.

I test diagnostici per l'influenza disponibili comprendono dosaggi immunoenzimatici rapidi, test di immunofluorescenza, reazione a catena della polimerasi (PCR), sierologia e coltura virale.<sup>3-10</sup> Nei test di immunofluorescenza, i campioni fissati su vetrino vengono colorati con anticorpi marcati con un agente fluorescente e osservati mediante microscopia a fluorescenza.<sup>5,11,12</sup> I metodi culturali consistono nell'isolamento virale iniziale in coltura cellulare seguito da inibizione dell'emoadsorbimento, immunofluorescenza o test di neutralizzazione per confermare la presenza del virus dell'influenza.<sup>12-14</sup>

Il test **Directigen EZ Flu A+B** è un dosaggio immunoenzimatico cromatografico per la rilevazione degli antigeni dei virus influenzali A e B da campioni respiratori di pazienti sintomatici che consente di avere i risultati entro 15 min. Grazie alla rapidità e facilità di esecuzione, il dosaggio **Directigen EZ Flu A+B** può essere usato come test "STAT" di rilevazione degli antigeni dei virus influenzali A e B offrendo informazioni importanti ai fini della diagnosi di influenza. L'uso del test **Directigen EZ Flu A+B** per la differenziazione dell'infezione da virus A da quella da virus B può fornire una maggiore scelta a livello di intervento antivirale.

### PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test **Directigen EZ Flu A+B** è un dosaggio cromatografico per la rilevazione qualitativa degli antigeni dei virus influenzali A e B in campioni derivati dalle vie respiratorie. Una volta trattati e dispensati i campioni nel dispositivo di analisi, gli antigeni dei virus influenzali A o B si legano agli anticorpi anti-influenza coniugati con particelle di visualizzazione nelle strisce di test A e B corrispondenti. Il complesso antigene-coniugato migra sulla striscia del test fino all'area reattiva e viene catturato dalla riga di anticorpi sulla membrana. Se il test per influenza A è positivo, compare una riga di colore rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test "T" e della posizione di controllo "C" nella finestra di lettura **Directigen EZ Flu A**. Se il test per influenza B è positivo, compare una riga di colore rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test "T" e della posizione di controllo "C" nella finestra di lettura **Directigen EZ Flu B**.

## REAGENTI

Il kit **Directigen EZ Flu A+B** comprende i seguenti componenti.

Dispositivi <b>BD Flu A+B</b>	30 dispositivi	Dispositivo in busta di foglio alluminio contenente due strisce reattive. Ogni striscia contiene una riga di test di anticorpi monoclonali specifici per l'antigene del virus influenzale A o B e una riga di controllo di anticorpi anti-specie.
Reagente E	4,7 mL	Detergente, con sodio azide allo 0,2% (conservante)
Tampone di controllo Flu A+B-	1	Controllo positivo Flu A e negativo Flu B, antigene del virus influenzale A (nucleoproteina ricombinante inattiva) con sodio azide allo < 0,1% (conservante)
Tampone di controllo Flu B+/A-	1	Controllo positivo Flu B e negativo Flu A, antigene del virus influenzale B (nucleoproteina ricombinante inattiva) con sodio azide allo < 0,1% (conservante)
Provette <b>DispensTube</b>	30	Provette per il trattamento dei campioni e la dispensazione dei campioni nei dispositivi.
Puntali <b>DispensTube</b>	30	Puntali per filtrare il campione dispensato nei dispositivi.

**Materiali necessari ma non forniti** - Pipetta (in grado di dispensare 300 µL), cronometro, vortex, terreno di trasporto (vedere Raccolta e trattamento dei campioni), soluzione fisiologica e tamponi.

### Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

1. Qualora si sospetti un nuovo virus dell'influenza A sulla base dei criteri di screening clinici ed epidemiologici attuali raccomandati dalle autorità di salute pubblica, raccogliere i campioni adottando le precauzioni appropriate per il controllo dell'influenza in caso di nuovi virus influenzali virulenti e inviarli agli uffici igiene locali affinché siano testati. In questi casi, non cercare di eseguire una coltura virale a meno che non sia disponibile un laboratorio a livello di biosicurezza pari o superiore a 3 (BSL 3+) in grado di ricevere e porre in coltura i campioni.
2. I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi virus dell'epatite, virus dell'immunodeficienza umana e nuovi virus influenzali. Manipolare, conservare ed eliminare tutti i campioni e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida dell'istituto e alle "Precauzioni standard".<sup>15-18</sup>
3. I reagenti contengono sodio azide, una sostanza nociva per inalazione, ingestione o contatto con la pelle. A contatto con acidi, la sodio azide libera gas estremamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.
4. Non usare i componenti del kit oltre la data di scadenza.
5. Non mescolare i reagenti di kit con numeri di lotto diversi.
6. Non riutilizzare il dispositivo.
7. Non usare il kit se i Controlli non producono i risultati attesi.

**Conservazione e manipolazione** - I kit possono essere conservati a 2–25 °C. **NON CONGELARE**. Al momento dell'uso per il test, i reagenti e i dispositivi devono essere a temperatura ambiente (15–25 °C).

## RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

### Trasporto e conservazione dei campioni

Trattare immediatamente i campioni appena raccolti. Se necessario, i campioni (all'infuori di tamponi faringei) possono essere conservati in un terreno di trasporto adatto e mantenuti a 2–8 °C per un massimo di 72 h oppure a -20 °C per non più di sette giorni.

È essenziale seguire le corrette metodiche di raccolta e preparazione dei campioni. Non centrifugare i campioni prima di usarli in quanto la rimozione del materiale cellulare può influire negativamente sulla sensibilità del test. I campioni raccolti nella fase iniziale della malattia contengono i titoli virali più elevati.

**Terreni di trasporto** - I seguenti terreni di trasporto sono stati testati risultando compatibili con il test **Directigen EZ Flu A+B**.

Terreno Amies (liquido)	Soluzione fisiologica tamponata con fosfato (PBS) più sieroalbumina bovina (BSA) allo 0,5%
Terreno Bartel ViraTrans	PBS più gelatina allo 0,5%
Terreno minimo essenziale di Earle (EMEM)	Soluzione fisiologica tamponata con fosfato (PBS)
EMEM + BSA all'0,5%	Starplex Multitrans
EMEM + BSA all'1%	Fosfato di saccarosio (2-SP)
Soluzione di sali basici di Hanks	<b>Trypticase</b> Soy Broth
Terreno M4	<b>Trypticase</b> Soy Broth + gelatina allo 0,5%
Terreno M4 RT	<b>Trypticase</b> Soy Broth + BSA allo 0,5%
Terreno M5	Terreno di trasporto virale universale <b>BD</b>
Terreno Stuart modificato (liquido)	Brodo di infuso di vitello (VIB)
Soluzione fisiologica*	VIB più BSA allo 0,5%

\*Per test con **Directigen EZ Flu A+B**, si sconsiglia l'uso di campioni congelati raccolti in soluzione fisiologica.

Si possono utilizzare altri terreni di trasporto purché opportunamente validati in precedenza.

**NOTA:** terreni EMEM contenenti lattalbumina (0,5% o 1,0%) o altri terreni di trasporto contenenti lattalbumina non sono compatibili con il test **Directigen EZ Flu A+B**.

**Raccolta e preparazione dei campioni** - I campioni accettabili per l'analisi con il test **Directigen EZ Flu A+B** includono lavaggi/aspirati nasofaringei, tamponi nasofaringei e tamponi faringei. Raccolta inappropriata, errato processo di trattamento e/o trasporto dei campioni possono fornire un risultato falsamente negativo; di conseguenza, data l'importanza della qualità dei campioni ai fini dell'accuratezza dei risultati dei test, si raccomanda vivamente un adeguato addestramento alla raccolta dei campioni.

#### **Procedura per campioni da lavaggio/aspirato nasofaringeo e tampone nasofaringeo**

1. Per aspirati/lavaggi nasofaringei, si raccomandano volumi di 1-3 mL. In caso di utilizzo di terreno di trasporto, è preferibile una diluizione minima del campione.
2. Evitare campioni di lavaggio di volume eccessivo in quanto potrebbero ridurre la sensibilità del test.
3. Per tamponi nasofaringei, porre i tamponi in 1-3 mL di terreno di trasporto, dopo la raccolta.
4. Trattare il campione come descritto in "Procedura del test".

**Procedura per campioni da tamponi faringei** (sono raccomandati tamponi in [schiuma di] poliuretano – Vedere la sezione "Disponibilità")

1. Trattare i campioni da tamponi faringei senza terreno di trasporto, come descritto in "Procedura del test".

### **PROCEDURA**

#### **Procedura del test**

##### **NOTE:**

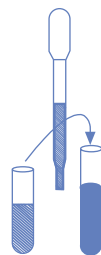
- Al momento del test, reagenti, campioni e dispositivi devono essere a temperatura ambiente (15–25 °C).
- Mescolare accuratamente tutti i campioni prima di prelevarne un'aliquota da sottoporre alla procedura. **Non centrifugare i campioni.**
- Mantenere i flaconi dei reagenti e le provette **DispensTube** in posizione verticale (a circa 2,5 cm dal pozzetto per campione del dispositivo **Directigen EZ Flu A+B** o dalla provetta **DispensTube**), dispensando delicatamente una goccia alla volta.
  1. Rimuovere il dispositivo **Directigen EZ Flu A+B** dalla busta in foglio d'alluminio immediatamente prima del test.
  2. Etichettare un dispositivo e una provetta **DispensTube** per ciascun controllo e campione da testare.
  3. Posizionare la provetta **DispensTube** etichettata nell'area designata della workstation o del rack.
  4. Mescolare delicatamente il reagente E e dispensarne 4 gocce nella provetta **DispensTube**. Dispensare le gocce tenendo il flacone di reagente in posizione verticale (a circa 2,5 cm dalla provetta **DispensTube**).



5. Sottoporre i campioni o i controlli alla procedura indicata di seguito:

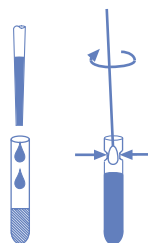
#### **a. Procedura per campioni da lavaggio/aspirato nasofaringeo e tampone nasofaringeo in terreno di trasporto:**

1. Vortexare o mescolare accuratamente. **Non centrifugare.**
2. Pipettare 300 µL di campione nella provetta **DispensTube** (contenente il reagente E).



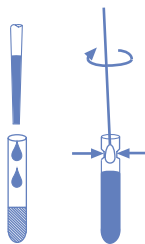
#### **b. Per campioni da tamponi faringei**

1. Dispensare 300 µL di soluzione fisiologica nella provetta **DispensTube** (contenente il reagente E).
2. Inserire il tampone e schiacciarlo ruotandolo 6-8 volte, comprimendo al contempo la provetta.
3. Rimuovere il tampone comprimendo al contempo la provetta per eliminare il liquido in eccesso dalla punta del tampone.



### c. Per i controlli del kit

1. Aggiungere 300 µL di soluzione fisiologica nella provetta **DispensTube** (contenente il reagente E).
2. Inserire il tampone di controllo e schiacciarlo ruotandolo 6-8 volte, comprimendo al contempo la provetta.
3. Rimuovere il tampone di controllo comprimendo al contempo la provetta per eliminare il liquido in eccesso dalla punta del tampone.



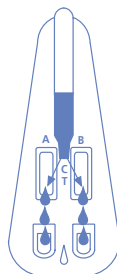
6. Inserire un puntale **DispensTube** nella provetta **DispensTube** contenente il campione trattato o il controllo.

**N.B.:** non utilizzare puntali di altri prodotti Directigen.



7. Vortexare o mescolare accuratamente.
8. Capovolgere la provetta **DispensTube** e tenendola sulla metà superiore, lontano dal puntale, comprimerla delicatamente per dispensare tre (3) gocce di campione trattato nell'apposito pozzetto Flu A e tre (3) in quello Flu B del dispositivo **Directigen EZ Flu A+B** recante l'etichetta appropriata. Per garantire una corretta dispensazione, mantenere le provette **DispensTube** in posizione verticale (a circa 2,5 cm dal pozzetto per campione del dispositivo **BD Flu A+B**), dispensando con attenzione una goccia alla volta in rapida successione.

**Nota:** comprimendo la provetta in prossimità del puntale si rischia di espellere quest'ultimo e provocare la fuoriuscita del contenuto dalla provetta.



9. Trascorsi 15 min dall'aggiunta del campione, leggere e annotare i risultati del test.

### Controllo di qualità

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio.

Ogni dispositivo **Directigen EZ Flu A+B** contiene controlli procedurali/interni positivi e negativi:

- La comparsa di una riga di controllo rosso-porpora nelle finestre di lettura Flu A e/o Flu B in corrispondenza della posizione di controllo "C" rappresenta un controllo interno positivo che valida il corretto funzionamento del reagente e garantisce che è stata seguita la corretta procedura di test.
- L'area della membrana circostante le righe del test Flu A e/o Flu B e le righe di controllo rappresenta il controllo interno negativo del dispositivo. Il colore bianco - rosa chiaro dell'area di fondo indica che il test fornisce le prestazioni corrette.

Ogni kit **Directigen EZ Flu A+B** contiene tamponi di controllo A+/- e B+/-A-:

Questi controlli vengono testati con la stessa procedura seguita per i campioni e costituiscono un sistema di controllo di qualità esterno. Usare tali controlli come procedura di controllo di qualità almeno per ciascun nuovo lotto di kit o ciascuna spedizione ricevuta. Se lo si desidera, è possibile determinare anche la correttezza delle prestazioni dei reagenti e della tecnica di test usando campioni di positività o negatività accertata per il virus influenzale A o B.

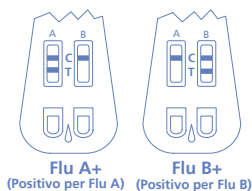
La formazione di una riga rosso-porpora nella membrana nella finestra di lettura Flu A in corrispondenza della posizione di test (T) e di controllo (C) durante l'analisi del Controllo A+/- e nella finestra di lettura Flu B in corrispondenza della posizione di test (T) e di controllo (C) durante l'analisi del Controllo B+/-A-, indica che le proprietà leganti dell'antigene influenzale della striscia di test sono efficaci.

La formazione di una riga di controllo rosso-porpora in corrispondenza della posizione di controllo (C) nella finestra di lettura Flu B e l'assenza di una riga di controllo rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test (T) durante l'impiego del Controllo A+/- rappresenta un risultato di controllo negativo Flu B appropriato che indica il corretto funzionamento del reagente e che è stata seguita la corretta procedura di test. Analogamente, la formazione di una riga di controllo rosso-porpora in corrispondenza della posizione di controllo (C) nella finestra di lettura Flu A e l'assenza di una riga di controllo rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test (T) durante l'analisi del Controllo B+/-A- indica un risultato di controllo negativo Flu A appropriato.

Se i controlli del kit non forniscono i risultati attesi, non refertare i risultati dei test dei pazienti. Per assistenza, contattare il rappresentante di zona di BD o il servizio tecnico.

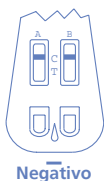
## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

**NOTA:** l'intensità della riga di controllo nelle finestre di lettura Flu A e Flu B può essere diversa. Una differenza nell'intensità della riga di controllo è accettabile. L'area di fondo deve essere di colore bianco - rosa chiaro e l'intensità nelle finestre di lettura Flu A e Flu B può essere diversa.



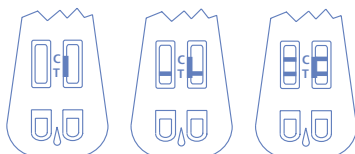
**Test positivo per Flu A (antigene virus influenzale A presente)** – Compare una riga di colore rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test "T" e della posizione di controllo "C" nella finestra di lettura **Directigen EZ Flu A**. Questo risultato non identifica alcun sottotipo specifico di virus dell'influenza A. Una riga di colore rosso-porpora deve comparire anche in corrispondenza della posizione di controllo "C" nella finestra di lettura **Directigen EZ Flu B**. Ciò indica che è stato rilevato l'antigene del virus influenzale A nel campione. L'area di fondo deve essere di colore bianco - rosa chiaro.

**Test positivo per Flu B (antigene virus influenzale B presente)** – Compare una riga di colore rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test "T" e della posizione di controllo "C" nella finestra di lettura **Directigen EZ Flu B**. Una riga di colore rosso-porpora deve comparire anche in corrispondenza della posizione di controllo "C" nella finestra di lettura **Directigen EZ Flu A**. Ciò indica che è stato rilevato l'antigene del virus influenzale B nel campione. L'area di fondo deve essere di colore bianco - rosa chiaro.



**Test negativo per Flu A o Flu B (nessun antigene rilevato)** – Nella finestra di lettura Flu A o Flu B non è visibile alcuna riga di colore rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test "T"; ciò indica che non è stato rilevato l'antigene del virus influenzale A o B o di entrambi. Questi risultati non escludono un'infezione influenzale virale. La presenza di una riga rosso-porpora in corrispondenza della posizione di controllo "C" in entrambe le finestre di lettura, indica che le prestazioni della procedura di test e dei reagenti sono corrette. L'area di fondo deve essere di colore bianco - rosa chiaro.

Negativo



Non valido

Non valido

Non valido

**Test non valido** – Il test non è valido se per Flu A o per Flu B oppure per entrambi (sia Flu A che Flu B) non è visibile alcuna riga rosso-porpora accanto alla posizione di controllo "C", nelle rispettive finestre di lettura. Il test è non valido anche nel caso in cui compaia una riga rosso-porpora in corrispondenza della posizione di test "T" sia nella finestra di lettura Flu A che in quella Flu B per lo stesso campione. Ripetere il test qualora non fosse valido.

## REFERTAZIONE DEI RISULTATI

### Test positivo

Positivo per la presenza di antigene del virus influenzale A o B. Si può avere un risultato positivo in assenza di virus vitali.

### Test negativo

Negativo per la presenza di antigene del virus influenzale A o B. Non è possibile escludere un'infezione da virus influenzale in quanto l'antigene presente nel campione potrebbe non raggiungere il limite di rilevazione del test. Si raccomanda di confermare mediante coltura i campioni negativi.

### Test non valido

Il risultato del test non è conclusivo. Non refertare i risultati.

## LIMITI DELLA PROCEDURA

- Questo test non definisce l'eziologia di infezione respiratoria causata da microrganismi diversi dal virus influenzale A o B. Il test **Directigen EZ Flu A+B** è in grado di rilevare particelle di virus influenzali vitali e non vitali. Le prestazioni del test **Directigen EZ Flu A+B** dipendono dalla carica antigenica e possono non essere correlate con colture cellulari ottenute dallo stesso campione.
- Bassi livelli di diffusione del virus possono fornire un risultato falsamente negativo; di conseguenza, un risultato negativo del test non esclude la possibilità di infezione da virus dell'influenza A o B o sia A che B.
- La validità del test **Directigen EZ Flu A+B** per l'identificazione o la conferma di isolati in colture cellulari non è stata accertata.
- Le caratteristiche prestazionali per il virus dell'influenza A sono state stabilite in casi in cui i virus A/H3 e A/H1 erano i virus di influenza A prevalenti in circolazione. Le caratteristiche prestazionali potrebbero pertanto variare laddove emergessero altri virus dell'influenza A.
- Poiché i bambini tendono a diffondere il virus per periodi più lunghi rispetto agli adulti, tra adulti e bambini potrebbero riscontrarsi differenze a livello di sensibilità.
- I valori predittivi positivi e negativi dipendono in misura elevata dalla prevalenza. I risultati falsamente positivi sono più probabili nei periodi di bassa attività influenzale, allorché la prevalenza è moderata - bassa.

## VALORI ATTESI

Il tasso di positività osservato nei test respiratori varia a seconda della metodica usata per la raccolta, del sistema di trattamento/trasporto impiegato, della metodica di rilevazione adottata, del periodo dell'anno, dell'età del paziente, dell'area geografica e soprattutto della prevalenza della malattia nella regione. La prevalenza complessiva osservata nelle colture durante lo studio clinico 2003-2004 è risultata pari al 24,3% per influenza A e al 3,8% per influenza B. La prevalenza complessiva osservata nelle colture durante lo studio clinico 2004-2005 è risultata pari al 26,0% per

influenza A e al 31,2% per influenza B. La prevalenza complessiva osservata nelle colture durante lo studio clinico 2006 è risultata pari al 33,9% per influenza A e allo 0,2% per influenza B.

### CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali del test **Directigen EZ Flu A+B** sono state determinate in studi multicentrici condotti in cinque centri clinici durante la stagione epidemica respiratoria 2003-2004, in 13 centri clinici durante la stagione epidemica 2004-2005 e in 2 centri clinici durante la stagione epidemica 2006. I centri clinici erano situati in varie aree geografiche di Stati Uniti, Giappone, Hong Kong e Nuova Zelanda.

Sono stati complessivamente valutati 1191 campioni prospettivi e 59 campioni retrospettivi usando il test **Directigen EZ Flu A+B** e coltura cellulare. Tali campioni erano costituiti da lavaggi nasofaringei, aspirati nasofaringei, tamponi nasofaringei e tamponi faringei prelevati da pazienti con sospetta influenza.

#### Prestazioni cliniche -

Le Tabelle 1 a 6 illustrano le caratteristiche prestazionali di **Directigen EZ Flu A+B** rispetto a coltura cellulare per ciascun tipo di campione.

**Tabella 1. Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ Flu A+B rispetto a coltura per tutti i tipi di campione - Influenza A: stagioni epidemiche 2003-2004, 2004-2005 e 2006 combinate**

Tipo di campione	Test Directigen EZ Flu A+B	Coltura cellulare	
		P	N
Lavaggi/aspirati nasofaringei	P	115	2
	N	19	330
Sensibilità: 86% (IC 95%: 79% - 91%) Specificità: 99% (IC 95%: 98% - 100%)			
Tamponi faringei	P	43	29
	N	13	184
Sensibilità: 77% (IC 95%: 64% - 87%) Specificità: 86% (IC 95%: 81% - 91%)			
Tamponi nasofaringei	P	146	20
	N	15	275
Sensibilità: 91% (IC 95%: 85% - 95%) Specificità: 93% (IC 95%: 90% - 96%)			

**Tabella 2. Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ Flu A+B rispetto a coltura per tutti i tipi di campione - Influenza B: stagioni epidemiche 2003-2004, 2004-2005 e 2006 combinate**

Tipo di campione	Test Directigen EZ Flu A+B	Coltura cellulare	
		P	N
Lavaggi/aspirati nasofaringei	P	57	1
	N	14	394
Sensibilità: 80% (IC 95%: 69% - 89%) Specificità: 100% (IC 95%: 99% - 100%)			
Tamponi faringei	P	38	3
	N	17	211
Sensibilità: 69% (IC 95%: 55% - 81%) Specificità: 99% (IC 95%: 96% - 100%)			
Tamponi nasofaringei	P	1	0
	N	0	455
Sensibilità: 100% (IC 95%: 3% - 100%) Specificità: 100% (IC 95%: 99% - 100%)			

**Tabella 3. Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ Flu A+B rispetto a coltura per tamponi nasofaringei retrospettivi - Influenza B da stagione epidemica 2005**

Tipo di campione	Test Directigen EZ Flu A+B	Coltura cellulare	
		P	N
Tamponi nasofaringei	P	32	0
	N	11	16
Concordanza positiva: 74% (IC 95%: 59% - 87%) Concordanza negativa: 100% (IC 95%: 79% - 100%)			

**Tabella 4. Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ Flu A+B rispetto a coltura per tutti i tipi di campione per popolazione - Influenza A: stagioni epidemiche 2003-2004, 2004-2005 e 2006 combinate**

		Coltura cellulare			
Tipo di campione	Test Directigen EZ Flu A+B	Pediatico (≤ 21 anni)		Adulto (> 21 anni)	
		P	N	P	N
Lavaggi/aspirati nasofaringei	P	94	2	21	0
	N	11	294	8	36
Sensibilità: <b>Pediatico:</b> 90% (IC 95%: 82% - 95%); <b>Adulto:</b> 72% (IC 95%: 53% - 87%) Specificità: <b>Pediatico:</b> 99% (IC 95%: 98% - 100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 90% - 100%)					
	Test Directigen EZ Flu A+B	Pediatico (≤ 21 anni)		Adulto (> 21 anni)	
		P	N	P	N
Tamponi faringei	P	38	23	5	6
	N	10	151	3	33
Sensibilità: <b>Pediatico:</b> 79% (IC 95%: 65% - 90%); <b>Adulto:</b> 63% (IC 95%: 24% - 91%) Specificità: <b>Pediatico:</b> 87% (IC 95%: 81% - 91%); <b>Adulto:</b> 85% (IC 95%: 69% - 94%)					
	Test Directigen EZ Flu A+B	Pediatico (≤ 21 anni)		Adulto (> 21 anni)	
		P	N	P	N
Tamponi nasofaringei	P	62	11	84	9
	N	6	84	9	191
Sensibilità: <b>Pediatico:</b> 91% (IC 95%: 82% - 97%); <b>Adulto:</b> 90% (IC 95%: 82% - 96%) Specificità: <b>Pediatico:</b> 88% (IC 95%: 80% - 94%); <b>Adulto:</b> 96% (IC 95%: 92% - 98%)					

**Tabella 5. Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ Flu A+B rispetto a coltura per tutti i tipi di campione per popolazione - Influenza B: stagioni epidemiche 2003-2004, 2004-2005 e 2006 combinate**

		Coltura cellulare			
Tipo di campione	Test Directigen EZ Flu A+B	Pediatico (≤ 21 anni)		Adulto (> 21 anni)	
		P	N	P	N
Lavaggi/aspirati nasofaringei	P	49	1	8	0
	N	13	338	1	56
Sensibilità: <b>Pediatico:</b> 79% (IC 95%: 67% - 88%); <b>Adulto:</b> 89% (IC 95%: 52% - 100%) Specificità: <b>Pediatico:</b> 100% (IC 95%: 98% - 100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 94% - 100%)					
	Test Directigen EZ Flu A+B	Pediatico (≤ 21 anni)		Adulto (> 21 anni)	
		P	N	P	N
Tamponi faringei	P	19	1	19	2
	N	12	190	5	21
Sensibilità: <b>Pediatico:</b> 61% (IC 95%: 42% - 78%); <b>Adulto:</b> 79% (IC 95%: 58% - 93%) Specificità: <b>Pediatico:</b> 99% (IC 95%: 97% - 100%); <b>Adulto:</b> 91% (IC 95%: 72% - 99%)					
	Test Directigen EZ Flu A+B	Pediatico (≤ 21 anni)		Adulto (> 21 anni)	
		P	N	P	N
Tamponi nasofaringei	P	0	0	1	0
	N	0	163	0	292
Sensibilità: <b>Pediatico:</b> Nessun calcolo di sensibilità; <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 3% - 100%) Specificità: <b>Pediatico:</b> 100% (IC 95%: 98% - 100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 99% - 100%)					

**Tabella 6. Riepilogo delle prestazioni del test Directigen EZ Flu A+B rispetto a coltura per tamponi nasofaringei retrospettivi per popolazione - Influenza B da stagione epidemica 2005**

		Coltura cellulare			
Tipo di campione	Test Directigen EZ Flu A+B	Pediatico (≤ 21 anni)		Adulto (> 21 anni)	
		P	N	P	N
Tamponi nasofaringei	P	20	0	12	0
	N	6	10	5	6
Concordanza positiva: <b>Pediatico:</b> 77% (IC 95%: 56% - 91%); <b>Adulto:</b> 71% (IC 95%: 44% - 90%) Concordanza negativa: <b>Pediatico:</b> 100% (IC 95%: 69% - 100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 54% - 100%)					

**Riproducibilità** - La riproducibilità del test Directigen EZ Flu A+B è stata valutata in quattro centri. Il pannello di riproducibilità è consistito in 20 campioni di influenza simulata, comprendenti campioni a bassa positività per Flu A o

Flu B (prossima al limite di rilevazione), campioni a moderata positività per Flu A o Flu B e campioni negativi. La riproducibilità complessiva del test **Directigen EZ Flu A+B** è stata del 99,6%.

#### Studi analitici

#### Sensibilità analitica (limite di rilevazione)

Il limite di rilevazione (LOD) del test **Directigen EZ Flu A+B** è stato stabilito per un totale di 17 ceppi di virus influenzale, 11 di tipo A e sei di tipo B.

Tipo	Ceppo di virus influenzale	LOD (CEID <sub>50</sub> /mL*)	LOD (TCID <sub>50</sub> /mL**)
A	A/PR/8/34 (H1N1)	1,75 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A/FM/1/47 (H1N1)	1,98 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/NWS/33 (H1N1)	1,00 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A1/Denver/1/57 (H1N1)	5,56 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/New Jersey/8/76 (H1N1)	4,45 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	1,00 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>2</sup>	–
A	A2/Aichi/2/68 (H3N2)	3,50 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Victoria/3/75 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A/California/04/09 (H1N1)	–	5,37 X 10 <sup>2</sup>
A	A/California/07/09 (H1N1)	–	1,86 X 10 <sup>3</sup>
B	B/Lee/40	6,95 X 10 <sup>5</sup>	–
B	B/Allen/45	2,00 X 10 <sup>3</sup>	–
B	B/GL/1739/54	5,56 X 10 <sup>3</sup>	–
B	B/Taiwan/2/62	3,50 X 10 <sup>2</sup>	–
B	B/Maryland/1/59	2,23 X 10 <sup>4</sup>	–
B	B/Hong Kong/5/72	2,23 X 10 <sup>4</sup>	–

\* CEID<sub>50</sub>/mL = Chick Embryo Infectious Dose (dose infettante l'embrione di pollo) alla quale muore il 50% degli embrioni

\*\*TCID<sub>50</sub>/mL = Dose infettante in coltura tissutale alla quale è infettato il 50% delle cellule

Sebbene questo test abbia rilevato il virus H1N1 2009 coltivato a partire da un campione respiratorio umano positivo, le caratteristiche prestazionali di questo dispositivo non sono state stabilite su campioni clinici positivi al virus dell'influenza H1N1 2009. **BD Directigen EZ Flu A+B** può differenziare i virus dell'influenza A e B, ma non può differenziare i sottotipi di tali virus.

#### Specificità analitica (reattività crociata)

Il test **Directigen EZ Flu A+B** è stato valutato con un totale di 98 microrganismi. I 51 batteri e i due lieviti sono stati testati a una concentrazione di ~10<sup>8</sup> UFC/mL (UFC, unità formanti colonia). *Mycoplasma pneumoniae* e *Mycoplasma orale* sono stati rispettivamente testati a una concentrazione di >10<sup>6</sup> e >10<sup>7</sup> UCC/mL (unità cambianti colore, UCC). I tre ceppi di micobatteri sono stati inoculati a una concentrazione di 10<sup>7</sup> UFC/mL e *Chlamydia trachomatis* LGVII è stato testato a 2,5 X 10<sup>8</sup> CE/mL (CE = corpi elementari). I 39 virus testati sono stati valutati a concentrazioni di 10<sup>4</sup>–10<sup>9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (TCID<sub>50</sub> - Tissue Culture Infectious Dose, dose infettante la coltura tissutale, alla quale viene lisato il 50% delle cellule) o di 10<sup>4</sup>–10<sup>8</sup> CEID<sub>50</sub>/mL (CEID<sub>50</sub> - Chick Embryo Infectious Dose, dose infettante l'embrione di pollo, alla quale viene infettato il 50% degli embrioni). Tutti i microrganismi (all'infuori dei virus influenzali) hanno evidenziato risultati negativi per Flu A e per Flu B. I virus influenzali A testati (n = 2) hanno evidenziato risultati positivi per Flu A e negativi per Flu B. I virus influenzali B testati (n = 6) hanno evidenziato risultati positivi per Flu B e negativi per Flu A.

<i>Acinetobacter baumannii</i> (calcoacetico)	<i>Neisseria meningitidis</i>	Coxsackievirus Tipo A9 (Griggs)
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Coxsackievirus Tipo A9 (P.B. Bozek)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Coxsackievirus Tipo B5 (Faulkner)
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Coxsackievirus Tipo B6 (Schmitt)
<i>Candida albicans</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Coxsackievirus Tipo A21 (Kuykendall)
<i>Candida glabrata</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	Cytomegalovirus (AD-169)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Prevotella oralis</i>	Echovirus Tipo 2 (Cornelis)
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Proteus mirabilis</i>	Echovirus Tipo 3 (Morrisey)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	Echovirus Tipo 6 (D'Amori)
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HSV Tipo 1 (HF)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	HSV Tipo 2 (MS)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	sub minnesota	Influenza A/PR/8/34 (H1N1)
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	Influenza A/Victoria/3/75 (H3N2)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Influenza B/Hong Kong/5/72
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> -Cowan 1	Influenza B/Lee/40
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Streptococcus bovis</i> Il gruppo D	Influenza B/Allen/45
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Influenza B/GL/1739/54
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	Influenza B/Maryland/1/59
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	Influenza B/Taiwan/2/62
<i>Kingella kingae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Virus del morbillo (Edmonston)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> gruppo A	Virus della parotite (Enders)
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	Parainfluenza Tipo 1 (Sendia/52)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo B	Parainfluenza Tipo 2 (Greer)

<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo C	Parainfluenza Tipo 3 (C243)
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo F	Rhinovirus Tipo 1A (2060)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus</i> sp. gruppo G	Rhinovirus Tipo 2 (HGP)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>	Rhinovirus Tipo 13 (353)
<i>Mycobacterium avium</i>	Adenovirus, Tipo 3 (GB)	Rhinovirus v 15 (1734)
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Adenovirus, Tipo 5 (Adenoid 75)	Rhinovirus Tipo 16 (11757)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Adenovirus, Tipo 7 (Gomen)	Rhinovirus v 37 (151-1)
<i>Mycoplasma orale</i>	Adenovirus, Tipo 10 (J.J.)	RSV Tipo A (Long)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adenovirus, Tipo 18 (D. C.)	RSV Tipo B (Wash/18537/62)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Coronavirus (229E)	VZV (Ellen)

#### Reattività per ceppo con virus influenzali A e B

Il test **Directigen** EZ Flu A+B è stato valutato usando un pannello di 39 ceppi influenzali, in cui erano rappresentati tutti i sottotipi conosciuti di emagglutinina (15) e neuraminidasi (9) di influenza A. Tutti i ceppi di virus influenzale A umani e animali hanno evidenziato risultati positivi per Flu A e negativi per Flu B. Per contro, tutti i ceppi di virus influenzale B hanno evidenziato risultati positivi per Flu B e negativi per Flu A.

Virus dell'influenza (ceppo umano)	Tipo di virus	Virus dell'influenza (ceppo animale)	Tipo di virus
A/NWS/33	A (H1N1)	A/Turkey/Kansas/4880/80	A (H1N1)
A/PR/8/34	A (H1N1)	A/Mallard/New York/6750/78	A (H2N2)
A1/FM/1/47	A (H1N1)	A/Turkey/England/69	A (H3N2)
A1/Denver/1/57	A (H1N1)	A/Chicken/Alabama/75	A (H4N8)
A/New Jersey/8/76 (Hsw N1)	A (H1N1)	A/Turkey/Wisconsin/68	A (H5N9)
A/Port Chalmers/1/73	A (H3N2)	A/Turkey/Canada/63	A (H6N8)
A/Victoria/3/75	A (H3N2)	A/Turkey/Oregon/71	A (H7N3)
A/Vietnam/3028/04	A (H5N1)	A/Turkey/Ontario/6118/67	A (H8N4)
A/Thailand/MK2/04	A (H5N1)	A/Turkey/Wisconsin/66	A (H9N2)
A/Hong Kong/486/97	A (H5N1)	A/Chicken/Germany/N/49	A (H10N7)
A/California/07/2004	A (H3N2)	A/Duck/Memphis/546/74	A (H11N9)
A/California/04/09	A (H1N1)	A/Duck/Alberta/60/76	A (H12N5)
A/California/07/09	A (H1N1)	A/Gull/MD/704/77	A (H13N6)
B/Lee/40	B	A/Mallard/Gurjev/263/82	A (H14N5)
B/Allen/45	B	A/Shearwater/WA/2576/79	A (H15N6)
B/GL/1739/54	B		
B/Maryland/1/59	B		
B/Taiwan/2/62	B		
B/Mass/3/66	B		
B/Hong Kong/5/72	B		
B/Victoria/504/00	B		
B/Tokyo/53/99	B		
B/Quingdao/102/91	B		
B/Leningrad/86/93	B		

**NOTA:** Non sono state accertate le caratteristiche prestazionali per la rilevazione del virus dell'influenza A da campioni umani quando come patogeni umani emergono sottotipi di virus dell'influenza A non-A/H3 e non-A/H1.

Sebbene questo test abbia rilevato il virus H1N1 2009 coltivato a partire da un campione respiratorio umano positivo, le caratteristiche prestazionali di questo dispositivo non sono state stabilite su campioni clinici positivi al virus dell'influenza H1N1 2009. **BD Directigen** EZ Flu A+B può differenziare i virus dell'influenza A e B, ma non può differenziare i sottotipi di tali virus.

#### Sostanze interferenti

Con il test **Directigen** EZ Flu A+B sono state valutate varie sostanze, tra cui sangue intero (2%) e vari farmaci. Con questo dosaggio non è stata rilevata alcuna interferenza.

#### Farmaci valutati

Tre colluttori da banco al 25%

Tre preparazioni da banco in gocce per uso faringeo al 25%

Tre spray nasali da banco al 10%

4-acetamidofenolo (10 mg/mL)

Acido acetilsalicilico (20 mg/mL)

Clorfeniramina maleato (5 mg/mL)

Destrometorfanolo (10 mg/mL)

Fexofenadina (500 ng/mL)

Amantadina (500 ng/mL)

Albuterolo (0,083 mg/mL)

Ribavirina (500 ng/mL)

Pseudoefedrina cloridrato (20 mg/mL)

Gliceril-etere guaiacolo (20 mg/mL)

Ibuprofene (10 mg/mL)

Ossimetazolina (0,05 mg/mL)

Fenilefrina (1 mg/mL)

Loratidina (100 ng/mL)

Difenidramina cloridrato (5 mg/mL)

Zanamivir (1 mg/mL)

Rimantadina (500 ng/mL)

Osetamivir (500 ng/mL)

Sinagis (0,1 mg/mL)

## DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
256050	<b>Directigen EZ Flu A+B 30 Test Kit</b>
220144	<b>BBL CultureSwab EZ 100</b> (tampone singolo) per prelievo di tamponi faringei
220115	<b>BBL CultureSwab</b> tampone singolo sterile, conf. da 100
220131	<b>BBL CultureSwab Liquid Amies</b> , filo flessibile in alluminio, conf. da 50
220134	<b>BBL CultureSwab Liquid Stuart</b> , filo flessibile in alluminio, conf. da 50
221819	Soluzione fisiologica, 5 mL, cartone da 100
220220	<b>BD Universal Viral Transport</b> , flaconcino da 3 mL, conf. da 50
220250	Regular Flocked Swab, tampone singolo sterile, conf. da 100
220251	Minitip Flocked Swab, tampone singolo sterile, conf. da 100
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, tampone singolo sterile, conf. da 100
256033	<b>Directigen EZ Flu A+B Control Set</b> , conf. da 10

**BIBLIOGRAFIA:** Vedere "References" nel testo inglese.

# **BD Directigen EZ Flu A+B**

## Para una detección directa y diferenciada de los antígenos de influenza tipo A y B

Español

### USO PREVISTO

El análisis **Directigen EZ Flu A+B** es un inmunoanálisis cromatográfico rápido para la detección directa y cualitativa de los antígenos de influenza tipo A y B en muestras obtenidas mediante lavados y aspirados nasofaríngeos, torundas nasofaríngeas y torundas faríngeas de pacientes sintomáticos. El **Directigen EZ Flu A+B** es un análisis diferenciado, que permite distinguir los antígenos virales de la influenza A de los de la influenza B a partir de una misma muestra procesada y por medio de un único dispositivo. El análisis se utiliza como ayuda para el diagnóstico de las infecciones por los virus de influenza A y B. Todos los resultados negativos del análisis deben confirmarse mediante cultivo celular, ya que los resultados negativos no descartan la infección por virus de la influenza y no deben utilizarse como la única base para decidir el tratamiento o tomar otras decisiones relacionadas con el mismo.

Las características de rendimiento para la influenza B mediante el uso de torundas nasofaríngeas (NPS) se estableció principalmente con muestras retrospectivas congeladas. Los usuarios pueden querer establecer la sensibilidad de esta prueba para la influenza B mediante muestras frescas de torundas nasofaríngeas.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La enfermedad de la gripe normalmente hace acto de presencia con la aparición repentina de fiebre, escalofríos, cefalea, mialgias y tos no productiva. Las epidemias de gripe suelen producirse, por lo general, durante los meses de invierno, y sólo en los Estados Unidos causan cada año unas 114.000 hospitalizaciones<sup>1</sup> y 36.000 muertes<sup>2</sup>. Los virus de la influenza también pueden ocasionar pandemias, durante las cuales pueden aumentar sensiblemente las tasas de enfermedad y de muerte causadas por complicaciones relacionadas con la influenza.

Los pacientes que presentan síntomas de gripe pueden beneficiarse del tratamiento con un agente antivírico, especialmente si se administra en las primeras 48 h a partir del momento en que aparece la enfermedad. Es importante distinguir rápidamente la influenza A de la influenza B con el fin de que el médico pueda seleccionar la intervención antiviral más adecuada. Asimismo, es importante determinar si la influenza A o B está causando una enfermedad sintomática en un determinado centro (p. ej., un asilo de ancianos) o comunidad, con el fin de que pueda llevarse a cabo una intervención preventiva adecuada para las personas más propensas a contraer esta enfermedad. Por tanto, es fundamental determinar cuanto antes no sólo si está presente la influenza, sino también el tipo de virus que está presente.

Las pruebas de diagnóstico disponibles para la influenza incluyen el inmunoanálisis rápido, el análisis mediante inmunofluorescencia, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la serología y el cultivo de virus<sup>3-10</sup>. Los análisis mediante inmunofluorescencia consisten en la tinción de muestras inmovilizadas en portaobjetos de microscopio mediante anticuerpos marcados con fluorescencia para su observación por medio de microscopía fluorescente<sup>5,11,12</sup>. Los métodos de cultivo emplean el aislamiento inicial del virus en cultivo celular, seguido de la inhibición de la hemadsorción, la inmunofluorescencia o el análisis de neutralización para confirmar la presencia del virus de la influenza<sup>12-14</sup>.

El análisis **Directigen EZ Flu A+B** es un inmunoanálisis cromatográfico que detecta los antígenos de la influenza A o B en muestras de las vías respiratorias de pacientes sintomáticos y ofrece resultados en 15 min.

Gracias a su rapidez y sencillez, el análisis **Directigen EZ Flu A+B** resulta indicado como un análisis de detección de antígenos de la influenza A y B "STAT" que aporta información útil para asistir en el diagnóstico de la influenza. El uso del análisis **Directigen EZ Flu A+B** para diferenciar las infecciones de Flu A y de Flu B puede proporcionar mayor selectividad en la intervención antiviral.

### PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El análisis **Directigen EZ Flu A+B** es un análisis cromatográfico diseñado para detectar cualitativamente los antígenos de los virus de la influenza A y B en muestras procesadas obtenidas de las vías respiratorias. Cuando se procesan las muestras y se añaden al dispositivo de análisis, los antígenos de los virus de la influenza A o B se unen a los anticuerpos antinfluenza conjugados con partículas de visualización en las correspondientes tiras de análisis A y B. El

complejo antígeno-conjugado se desplaza a través de la tira de análisis hasta el área de reacción y es atrapado por la línea de anticuerpo de la membrana. Un resultado positivo para la influenza A aparece como una línea de color morado rojizo en la posición de análisis "T" y en la posición de control "C" de la ventana de lectura de Flu A del **Directigen EZ**. Un resultado positivo para la influenza B aparece como una línea de color morado rojizo en la posición de análisis "T" y en la posición de control "C" de la ventana de lectura de Flu B del **Directigen EZ**.

## REACTIVOS

El kit **Directigen EZ Flu A+B** contiene los siguientes componentes:

Dispositivos <b>BD Flu A+B</b>	30 dispositivos	Dispositivo en bolsa de papel metalizado con dos tiras reactivas. Cada tira dispone de una línea de análisis de anticuerpos monoclonales específicos para el antígeno del virus de la influenza Flu A o Flu B y una línea de control de anticuerpo antiespecie.
Reactivo E	4,7 mL	Detergente, con azida sódica al 0,2% (conservante).
Torunda de control Flu A+/B-	1	Control positivo de Flu A y negativo de Flu B, antígeno de la influenza A (nucleoproteína recombinante inactiva) con < 0,1% de azida sódica (conservante).
Torunda de control Flu B+/A-	1	Control positivo de Flu B y negativo de Flu A, antígeno de la influenza B (nucleoproteína recombinante inactiva) con < 0,1% de azida sódica (conservante).
Tubos <b>DispensTube</b>	30	Tubos para el procesamiento y transferencia de muestras a los dispositivos.
Puntas <b>DispensTube</b>	30	Puntas para filtrar las muestras al transferirlas a los dispositivos.

**Materiales necesarios pero no suministrados:** Pipeta (con una capacidad de dispensación de 300 µL), reloj, agitador vórtex, medios de transporte (véase el apartado "Recogida y preparación de las muestras"), solución salina normal y torundas.

## Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1. Si se sospecha que la infección está causada por un virus de la influenza A nuevo según los actuales criterios de detección clínica y epidemiológica recomendados por las autoridades sanitarias, las muestras deben recogerse con las adecuadas precauciones de control de infecciones para nuevos virus virulentos de la influenza y enviarse a los correspondientes departamentos de sanidad para su posterior análisis. No deben realizarse cultivos víricos en estos casos a menos que se disponga de una instalación de nivel de bioseguridad 3 (BSL 3+) para recibir y cultivar muestras.
2. En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis, el virus de la inmunodeficiencia humana y nuevos virus de la influenza. El manejo, almacenamiento y eliminación de todas las muestras, así como de todos los objetos contaminados con sangre y otros líquidos corporales, deben realizarse siguiendo las "Precauciones estándar"<sup>15-18</sup> y las directivas del centro.
3. Los reactivos contienen azida sódica, que es nociva por inhalación, por ingestión o en contacto con la piel. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavarla inmediatamente con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre, formando azidas metálicas muy explosivas. Al desechar el material, utilizar un gran volumen de agua para evitar la acumulación de azidas.
4. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad.
5. No mezclar los reactivos de kits que tengan números de lote diferentes.
6. No reutilizar el dispositivo.
7. No utilizar el kit si los controles no producen los resultados adecuados.

**Conservación y manipulación:** Los kits se pueden conservar a una temperatura de 2–25 °C. **NO CONGELAR**. Los reactivos y los dispositivos deberán estar a temperatura ambiente (15–25 °C) en el momento de usarlos.

## RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

### Transporte y conservación de las muestras:

Las muestras recién recogidas se deben procesar de inmediato. Si es necesario, las muestras (que no sean torundas faríngeas) podrán almacenarse en un medio de transporte adecuado y conservarse durante un máximo de 72 h a 2-8 °C o durante un máximo de siete días a -20 °C.

Es esencial seguir los métodos adecuados de recogida y preparación de las muestras. No centrifugar las muestras antes de su uso, ya que la eliminación de material celular puede afectar adversamente a la sensibilidad del análisis. Las muestras obtenidas en las primeras fases de la enfermedad presentarán las concentraciones de virus más altas.

**Medios de transporte:** Los siguientes medios de transporte se han sometido a prueba y se ha determinado que son compatibles con el análisis **Directigen EZ Flu A+B**:

Medio de Amies (líquido)	PBS + albúmina sérica bovina (BSA) al 0,5%
Medio Bartel ViraTrans	PBS + gelatina al 0,5%
Medio esencial mínimo de Earle (EMEM)	Solución salina tamponada con fosfato (PBS)
EMEM + BSA al 0,5%	Starplex Multitrans
EMEM + BSA al 1%	Fosfato de sacarosa (2-SP)
Solución salina basal de Hanks	Caldo de soja <b>Trypticase</b>
Medio M4	Caldo de soja <b>Trypticase</b> + gelatina al 0,5%
Medio RT M4	Caldo de soja <b>Trypticase</b> + BSA al 0,5%
Medio M5	Medio universal de transporte de virus <b>BD</b>
Medio de Stuart modificado (líquido)	Caldo de infusión de ternera (VIB)
Solución salina normal*	VIB + BSA al 0,5%

\* No se recomienda congelar las muestras recogidas en solución salina normal para su análisis con el **Directigen EZ Flu A+B**.

Pueden utilizarse otros medios de transporte si se realiza una validación apropiada.

**NOTA:** Los medios EMEM que contienen lactoalbúmina (p. ej., 0,5% o 1,0%) o cualquier otro medio de transporte que contenga lactoalbúmina no son compatibles con el análisis **Directigen EZ Flu A+B**.

**Recogida y preparación de las muestras:** Las muestras aceptables para su análisis con el **Directigen EZ Flu A+B** son las obtenidas mediante lavados y aspirados nasofaríngeos, torundas nasofaríngeas y torundas faríngeas. Si las muestras no se recogen, manipulan o transportan adecuadamente, la prueba puede dar lugar a un falso negativo; por lo tanto, dada la importancia de la calidad de las muestras para obtener resultados precisos en la prueba, se recomienda encarecidamente practicar la recogida de muestras.

**Procedimiento para muestras obtenidas mediante lavados, aspirados nasofaríngeos y torundas nasofaríngeas:**

1. Para lavados y aspirados nasofaríngeos se recomienda usar volúmenes de muestra de 1 a 3 mL. Si se utiliza un medio de transporte, es preferible una dilución mínima de la muestra.
2. Deben evitarse los volúmenes de lavado excesivos, ya que podrían causar una disminución de la sensibilidad.
3. Ponga las torundas nasofaríngeas en 1 a 3 mL de medio de transporte tras la toma de muestras.
4. Procesar la muestra tal como se describe en el apartado "Procedimiento de análisis".

**Procedimiento para muestras obtenidas mediante torundas faríngeas** (se recomienda usar torundas de poliuretano [espuma] - Véase el apartado "Disponibilidad"):

1. Las muestras obtenidas mediante torundas faríngeas se deben procesar sin medio de transporte, tal como se describe en "Procedimiento de análisis".

## PROCEDIMIENTO

### Procedimiento de análisis

#### NOTAS:

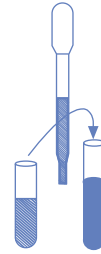
- Los reactivos, las muestras y los dispositivos deberán estar a temperatura ambiente (15–25 °C) para el análisis.
- Mezclar a conciencia todas las muestras antes de retirar una parte alícuota para su procesamiento. **No centrifugar las muestras.**
- Los tubos **DispensTube** y los frascos de reactivos deben mantenerse en posición vertical (a una altura aproximada de 2,5 cm del pocillo de muestras del dispositivo **Directigen EZ Flu A+B** o del tubo **DispensTube**) mientras se transfiere el contenido gota a gota.
  1. Extraer el dispositivo **Directigen EZ Flu A+B** de su bolsa de papel metalizado justo antes de realizar el análisis.
  2. Rotular un dispositivo y un tubo **DispensTube** para cada control y muestra que se vaya a analizar.
  3. Colocar el tubo o los tubos **DispensTube** rotulados en el área designada de la estación de trabajo o de la gradilla.
  4. Mezclar suavemente el reactivo E. Dispensar 4 gotas en el tubo **DispensTube**. Mantener el frasco del reactivo en posición vertical (a una altura aproximada de 2,5 cm del tubo **DispensTube**) mientras se dispensan las gotas.



5. Procesar las muestras o los controles tal como se describe a continuación:

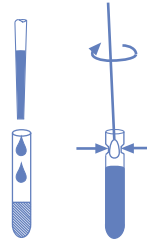
a. Para muestras obtenidas mediante lavado o aspirado nasofaríngeo y muestras de torundas nasofaríngeas en medio de transporte:

1. Agitar en el mezclador vorticial o mezclar a conciencia la muestra. **No centrifugar.**
2. Pipetear 300  $\mu\text{L}$  de muestra en el tubo **DispensTube** (que contiene el reactivo E).



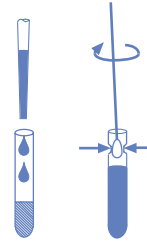
b. Para muestras obtenidas mediante torundas faríngeas:

1. Agregar 300  $\mu\text{L}$  de solución salina normal al tubo **DispensTube** (que contiene el reactivo E).
2. Insertar la torunda y exprimirla, haciéndola girar de 6 a 8 veces mientras se aprieta el tubo.
3. Retirar la torunda mientras se aprieta el tubo para eliminar el exceso de líquido de la punta de la torunda.



c. Para los controles del kit:

1. Agregar 300  $\mu\text{L}$  de solución salina normal al tubo **DispensTube** (que contiene el reactivo E).
2. Insertar la torunda del control y exprimirla, haciéndola girar de 6 a 8 veces mientras se aprieta el tubo.
3. Retirar la torunda del control mientras se aprieta el tubo para eliminar el exceso de líquido de la punta de la torunda.



6. Insertar una punta **DispensTube** en el tubo **DispensTube** que contiene el control o la muestra procesada.

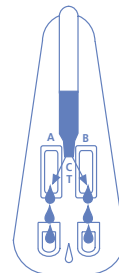
**Nota: No utilizar puntas de otros productos Directigen.**



7. Agitar en el agitador vorticial o mezclar a conciencia.

8. Invertir el tubo **DispensTube** y, mientras se sujeta por la mitad superior (la más alejada de la punta), presionar suavemente para dispensar tres (3) gotas de la muestra procesada en el pocillo de la muestra Flu A y tres (3) gotas en el pocillo de la muestra Flu B del dispositivo **Directigen EZ Flu A+B** convenientemente rotulado. Para garantizar una transferencia apropiada, los tubos **DispensTube** deben mantenerse en posición vertical (aproximadamente a 2,5 cm del pocillo de muestras del dispositivo **BD Flu A+B**) mientras se transfiere el contenido de gota en gota, de forma rápida.

**Nota: Si se presiona el tubo cerca de la punta, ésta podría soltarse y podría producirse el escape del contenido del tubo.**



9. Después de agregar la muestra, leer el resultado al cabo de 15 min y registrarlo.

## Control de calidad:

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad de su laboratorio.

Cada dispositivo **Directigen EZ** Flu A+B contiene controles de procedimiento interno tanto positivo como negativo:

- La aparición de una línea de control de color morado rojizo en las ventanas de lectura de Flu A y/o Flu B en la posición de control "C" proporciona un control positivo interno que valida el funcionamiento correcto del reactivo y garantiza que se ha seguido el procedimiento de análisis adecuado.
- La zona de la membrana alrededor de las líneas de análisis y de control de Flu A y/o Flu B es el control negativo interno del dispositivo. Un área de fondo de color blanco a rosado claro indica que el análisis se está realizando correctamente.

Cada kit **Directigen EZ** Flu A+B contiene las torundas de los controles A+B/- y B+/A-:

Estos controles se analizan de la misma manera que las muestras del paciente y ofrecen un medio de control de calidad externo. Como mínimo, estos controles deben analizarse como procedimiento de control de calidad para cada lote de kits nuevo o envío recibido. Si se desea, también podrá determinarse si el rendimiento del reactivo es adecuado y si la técnica de análisis es la correcta, utilizando muestras validadas como positivas o negativas para el virus de la influenza A o B.

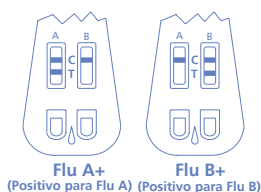
La formación de una línea morada rojiza en la membrana de la ventana de lectura de Flu A en la posición de análisis (T) y en la posición de control (C) cuando se analiza el Control A+/B-, y en la ventana de lectura de Flu B en la posición de análisis (T) y la posición de control (C) cuando se analiza el Control B+/A-, indica que la propiedad de unión de antígenos de influenza de la tira reactiva funciona correctamente.

La formación de una línea de control de color morado rojizo en la posición de control (C) de la ventana de lectura de Flu B y la ausencia de una línea de análisis de color morado rojizo en la posición de análisis (T) cuando se utiliza el Control A+/B- es un resultado adecuado de control negativo de Flu B que indica que el funcionamiento del reactivo es correcto y se ha seguido el procedimiento de análisis adecuado. De forma análoga, la formación de una línea de control de color morado rojizo en la posición de control (C) de la ventana de lectura de Flu A y la ausencia de una línea de análisis de color morado rojizo en la posición de análisis (T) cuando se analiza el Control B+/A- indica un resultado adecuado de control negativo de Flu A.

Si los controles del kit no producen los resultados esperados, no deben registrarse los resultados del paciente. Póngase en contacto con el representante local o el servicio técnico de BD para solicitar asistencia.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

**NOTA:** La intensidad de la línea de control podrá variar entre las ventanas de lectura de Flu A y de Flu B. La variabilidad de la intensidad de la línea de control es aceptable. El color del área de fondo debe ser entre blanco y rosado claro y su intensidad podrá variar entre las ventanas de lectura de Flu A y de Flu B.

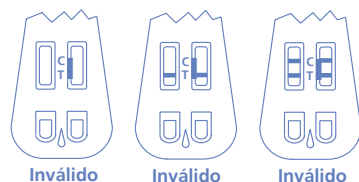


**Análisis positivo para Flu A (antígeno de la influenza A presente)** - Aparece una línea de color morado rojizo en la posición de análisis "T" y en la posición de control "C" de la ventana de lectura de Flu A del **Directigen EZ**. Este resultado no identifica ningún subtipo específico del virus de la influenza A. También debería aparecer una línea de color morado rojizo en la posición de control "C" de la ventana de lectura de Flu B del **Directigen EZ**. Esto indica que se detectaron antígenos de la influenza A en la muestra. El color del área de fondo debe ser entre blanco y rosado claro.

**Análisis positivo para Flu B (antígeno de la influenza B presente)** - Aparece una línea de color morado rojizo en la posición de análisis "T" y en la posición de control "C" de la ventana de lectura de Flu B del **Directigen EZ**. También debería aparecer una línea de color morado rojizo en la posición de control "C" de la ventana de lectura de Flu A del **Directigen EZ**. Esto indica que se detectaron antígenos de la influenza B en la muestra. El color del área de fondo debe ser entre blanco y rosado claro.



**Resultado negativo para Flu A o Flu B (no se detectan antígenos)** - Si no aparece una línea de color morado rojizo en la posición de análisis "T" de la ventana de lectura de Flu A o de Flu B, ello indica que el antígeno de la influenza A o el antígeno de la influenza B, o ambos, no se detectaron en la muestra. Estos resultados no excluyen la infección por el virus de la influenza. Una línea de color morado rojizo en la posición de control "C" de ambas ventanas de lectura indica un rendimiento adecuado del procedimiento de análisis y de los reactivos. El color del área de fondo debe ser blanco y rosado claro.



**Análisis no válida** - El análisis se considera no válida para Flu A o para Flu B, o para Flu A y Flu B, si no aparece una línea visible de color morado rojizo al lado de la posición de control "C" en la ventana o ventanas de lectura respectivas. El análisis también se considera no válida si aparece una línea de color morado rojizo en la posición de análisis "T" de las ventanas de lectura de Flu A y de Flu B para la misma muestra. El análisis debe repetirse si no es válida.

## INFORME DE RESULTADOS

<b>Prueba positiva</b>	Resultado positivo para la presencia del antígeno de la influenza A o de la influenza B. Puede producirse un resultado positivo en ausencia de virus viables.
<b>Prueba negativa</b>	Resultado negativo para la presencia del antígeno de la influenza A o de la influenza B. No puede descartarse una infección por influenza, ya que la concentración de antígenos en la muestra puede ser inferior al límite de detección del análisis. Se recomienda confirmar las muestras negativas con un cultivo.
<b>Prueba no válida</b>	El resultado del análisis no es concluyente. No se deben registrar los resultados.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- No es posible determinar con este análisis la etiología de una infección respiratoria causada por microorganismos que no sean el virus de la influenza A o B. El **Directigen EZ Flu A+B** es capaz de detectar partículas de influenza tanto viables como no viables. El rendimiento del análisis **Directigen EZ Flu A+B** depende de la carga antigénica y podría no tener correlación con un cultivo celular realizado con la misma muestra.
- Si los niveles de diseminación del virus son bajos, el resultado de la prueba puede ser un falso negativo; por lo tanto, un resultado negativo no elimina totalmente la posibilidad de infección por el virus de la influenza A, por el virus de la influenza B o por ambos.
- No se ha demostrado la validez del **Directigen EZ Flu A+B** para la identificación o confirmación de aislados realizados en cultivos celulares.
- Las características de rendimiento para la influenza A se establecieron cuando los subtipos predominantes del virus de la influenza A en circulación eran el A/H3 y el A/H1. Las características de rendimiento pueden variar si el virus de la influenza A emerge con subtipos diferentes.
- El periodo de diseminación de los virus suele ser más prolongado en los niños que en los adultos, lo cual puede suponer una diferencia entre ambos grupos de edad en lo que respecta a la sensibilidad de la prueba.
- Los valores predictivos positivos y negativos son muy dependientes de la prevalencia. Los resultados falsos positivos de la prueba se dan con más frecuencia durante períodos de baja actividad gripal, cuando la prevalencia es moderada o baja.

## VALORES PREVISTOS

La tasa de positividad observada en el análisis respiratorio variará en función del método de recogida y del sistema de manipulación y transporte de la muestra, del método de detección empleado, de la época del año, de la edad del paciente, de la ubicación geográfica y, lo más importante, de la prevalencia local de la enfermedad. La prevalencia global observada con los cultivos durante el estudio clínico de 2003–2004 fue del 24,3% para la influenza A y del 3,8% para la influenza B. Durante el estudio clínico de 2004–2005, la prevalencia global observada con los cultivos fue del 26,0% para la influenza A y del 31,2% para la influenza B. La incidencia global observada con los cultivos durante el estudio clínico realizado en 2006 fue del 33,9% para influenza A y del 0,2% para influenza B.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Las características de rendimiento del análisis **Directigen EZ Flu A+B** se establecieron en estudios multicéntricos realizados en cinco centros de ensayo durante la temporada respiratoria 2003–2004, en 13 centros de ensayo durante la temporada respiratoria 2004–2005 y en dos centros durante la temporada respiratoria de 2006. Los centros clínicos estaban ubicados en diversas áreas geográficas de los Estados Unidos, Japón, Hong Kong y Nueva Zelanda.

Se evaluaron un total de 1191 muestras prospectivas y 59 muestras retrospectivas utilizando el análisis **Directigen EZ Flu A+B** y cultivos celulares. Estas muestras consistían en lavados nasofaríngeos, aspirados nasofaríngeos, torundas faríngeas y nasofaríngeas de pacientes en quienes se sospechaba una infección de influenza.

### Rendimiento clínico:

En las tablas 1 a 6 se muestran las características de rendimiento del **Directigen EZ Flu A+B** en comparación con los cultivos celulares para cada tipo de muestra.

**Tabla 1: Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ Flu A+B en comparación con el cultivo para todos los tipos de muestras - Influenza A, temporadas respiratorias combinadas de 2003–2004, 2004–2005 y 2006**

Tipo de muestra	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Cultivo celular	
		P	N
Lavados y aspirados nasofaríngeos	P	115	2
	N	19	330
Sensibilidad: 86% (IC 95%: 79% - 91%) Especificidad: 99% (IC 95%: 98% - 100%)			
Torundas faríngeas	P	43	29
	N	13	184
Sensibilidad: 77% (IC 95%: 64% - 87%) Especificidad: 86% (IC 95%: 81% - 91%)			
Torundas nasofaríngeas	P	146	20
	N	15	275
Sensibilidad: 91% (IC 95%: 85% - 95%) Especificidad: 93% (IC 95%: 90% - 96%)			

**Tabla 2: Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ Flu A+B en comparación con el cultivo para todos los tipos de muestras - Influenza B, temporadas respiratorias combinadas de 2003-2004, 2004-2005 y 2006**

Tipo de muestra	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Cultivo celular	
		P	N
Lavados y aspirados nasofaríngeos	P	57	1
	N	14	394
Sensibilidad: 80% (IC 95%: 69% - 89%) Especificidad: 100% (IC 95%: 99% - 100%)			
Torundas faríngeas	P	38	3
	N	17	211
Sensibilidad: 69% (IC 95%: 55% - 81%) Especificidad: 99% (IC 95%: 96% - 100%)			
Torundas nasofaríngeas	P	1	0
	N	0	455
Sensibilidad: 100% (IC 95%: 3% - 100%) Especificidad: 100% (IC 95%: 99% - 100%)			

**Tabla 3: Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ Flu A+B en comparación con el cultivo para torundas nasofaríngeas retrospectivas - de influenza B de la temporada respiratoria del 2005**

Tipo de muestra	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Cultivo celular	
		P	N
Torundas nasofaríngeas	P	32	0
	N	11	16
Concordancia positiva: 74% (IC 95%: 59% - 87%) Concordancia negativa: 100% (IC 95%: 79% - 100%)			

**Tabla 4: Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ Flu A+B en comparación con el cultivo para todos los tipos de muestras por población - Influenza A, temporadas respiratorias combinadas de 2003-2004, 2004-2005 y 2006.**

Tipo de muestra	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Cultivo celular			
		Pediátrico (≤ 21 años)		Adulto (> 21 años)	
		P	N	P	N
Lavados y aspirados nasofaríngeos	P	94	2	21	0
	N	11	294	8	36
Sensibilidad: <b>Pediátrico:</b> 90% (IC 95%: 82% - 95%); <b>Adulto:</b> 72% (IC 95%: 53% - 87%) Especificidad: <b>Pediátrico:</b> 99% (IC 95%: 98% - 100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 90% - 100%)					
Torundas faríngeas	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Pediátrico (≤ 21 años)		Adulto (> 21 años)	
		P	N	P	N
	P	38	23	5	6
	N	10	151	3	33
Sensibilidad: <b>Pediátrico:</b> 79% (IC 95%: 65% - 90%); <b>Adulto:</b> 63% (IC 95%: 24% - 91%) Especificidad: <b>Pediátrico:</b> 87% (IC 95%: 81% - 91%); <b>Adulto:</b> 85% (IC 95%: 69% - 94%)					
Torundas nasofaríngeas	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Pediátrico (≤ 21 años)		Adulto (> 21 años)	
		P	N	P	N
	P	62	11	84	9
	N	6	84	9	191
Sensibilidad: <b>Pediátrico:</b> 91% (IC 95%: 82% - 97%); <b>Adulto:</b> 90% (IC 95%: 82% - 96%) Especificidad: <b>Pediátrico:</b> 88% (IC 95%: 80% - 94%); <b>Adulto:</b> 96% (IC 95%: 92% - 98%)					

**Tabla 5: Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ Flu A+B en comparación con el cultivo para todos los tipos de muestras por población - Influenza B, temporadas respiratorias combinadas de 2003–2004, 2004–2005 y 2006**

Tipo de muestra	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Cultivo celular			
		Pediátrico (≤ 21 años)		Adulto (> 21 años)	
		P	N	P	N
Lavados y aspirados nasofaríngeos	P	49	1	8	0
	N	13	338	1	56
Sensibilidad: <b>Pediátrico:</b> 79% (IC 95%: 67% - 88%); <b>Adulto:</b> 89% (IC 95%: 52% - 100%) Especificidad: <b>Pediátrico:</b> 100% (IC 95%: 98% - 100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 94% - 100%)					
Torundas faríngeas	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Pediátrico (≤ 21 años)		Adulto (> 21 años)	
		P	N	P	N
		19	1	19	2
	N	12	190	5	21
Sensibilidad: <b>Pediátrico:</b> 61% (IC 95%: 42% - 78%); <b>Adulto:</b> 79% (IC 95%: 58% - 93%) Especificidad: <b>Pediátrico:</b> 99% (IC 95%: 97% - 100%); <b>Adulto:</b> 91% (IC 95%: 72% - 99%)					
Torundas nasofaríngeas	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Pediátrico (≤ 21 años)		Adulto (> 21 años)	
		P	N	P	N
		0	0	1	0
	N	0	163	0	292
Sensibilidad: <b>Pediátrico:</b> Sin cálculo de la sensibilidad; <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 3% - 100%) Especificidad: <b>Pediátrico:</b> 100% (IC 95%: 98% -100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 99% - 100%)					

**Tabla 6: Resumen del rendimiento del análisis Directigen EZ Flu A+B en comparación con el cultivo para torundas nasofaríngeas retrospectivas por población - influenza B de la temporada respiratoria del 2005**

Tipo de muestra	Análisis Directigen EZ Flu A+B	Cultivo celular			
		Pediátrico (≤ 21 años)		Adulto (> 21 años)	
		P	N	P	N
Torundas nasofaríngeas	P	20	0	12	0
	N	6	10	5	6
Concordancia positiva: <b>Pediátrico:</b> 77% (IC 95%: 56% -91%); <b>Adulto:</b> 71% (IC 95%: 44% - 90%) Concordancia negativa: <b>Pediátrico:</b> 100% (IC 95%: 69% -100%); <b>Adulto:</b> 100% (IC 95%: 54% - 100%)					

**Reproducibilidad:** La reproducibilidad del análisis **Directigen EZ Flu A+B** se evaluó en cuatro centros. El panel de reproducibilidad estaba compuesto por 20 muestras de influenza simuladas. Estas muestras incluyeron muestras positivas de Flu A o Flu B de nivel bajo (próximas al límite de detección del análisis), muestras positivas de Flu A o Flu B de nivel moderado y muestras negativas. La reproducibilidad global del análisis **Directigen EZ Flu A+B** fue del 99,6%.

## Estudios analíticos

### Sensibilidad analítica (límite de detección)

Se estableció el límite de detección (LOD) del análisis **Directigen EZ Flu A+B** para un total de 17 cepas de influenza, 11 de influenza A y seis de influenza B.

Tipo	Cepa de virus de la influenza	LOD (CEID <sub>50</sub> /mL)*	LOD (TCID <sub>50</sub> /mL)**
A	A/PR/8/34 (H1N1)	1,75 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A/FM/1/47 (H1N1)	1,98 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/NWS/33 (H1N1)	1,00 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A1/Denver/1/57 (H1N1)	5,56 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/New Jersey/8/76 (H1N1)	4,45 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	1,00 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>2</sup>	–
A	A2/Aichi/2/68 (H3N2)	3,50 X 10 <sup>3</sup>	–
A	A/Victoria/3/75 (H3N2)	2,78 X 10 <sup>4</sup>	–
A	A/California/04/09 (H1N1)	–	5,37 X 10 <sup>2</sup>
A	A/California/07/09 (H1N1)	–	1,86 X 10 <sup>3</sup>
B	B/Lee/40	6,95 X 10 <sup>5</sup>	–
B	B/Allen/45	2,00 X 10 <sup>3</sup>	–
B	B/GL/1739/54	5,56 X 10 <sup>3</sup>	–
B	B/Taiwan/2/62	3,50 X 10 <sup>2</sup>	–
B	B/Maryland/1/59	2,23 X 10 <sup>4</sup>	–
B	B/Hong Kong/5/72	2,23 X 10 <sup>4</sup>	–

\* CEID<sub>50</sub>/mL = dosis infecciosa en embrión de polluelo a la cual mueren el 50% de los embriones

\*\*TCID<sub>50</sub>/mL = Dosis infecciosa en cultivo tisular a la cual se infectan el 50% de las células

A pesar de que esta prueba ha demostrado detectar el virus H1N1 2009 cultivado a partir de una muestra humana positiva, no se han establecido las características de rendimiento de este dispositivo con muestras clínicas que son positivas al virus de la influenza H1N1 2009. **BD Directigen EZ Flu A+B** puede diferenciar entre virus de la influenza A y B, pero no puede diferenciar los subtipos de la influenza.

### Especificidad analítica (reactividad cruzada)

Se evaluó el análisis **Directigen EZ Flu A+B** con un total de 98 microorganismos. Las 51 bacterias y las dos levaduras se analizaron a una concentración de ~10<sup>8</sup> UFC/mL (CFU - unidades formadoras de colonias). *Mycoplasma pneumoniae* y *Mycoplasma orale* se analizaron a una concentración de > 10<sup>6</sup> y >10<sup>7</sup> UCC/mL (CCU - unidades con cambio de color), respectivamente. Las tres cepas de micobacterias se inocularon a 10<sup>7</sup> UFC/mL y *Chlamydia trachomatis* LGVII se analizó a 2,5 x 10<sup>8</sup> CE/mL (CE = cuerpos elementales). Los 39 virus analizados se evaluaron a concentraciones de 10<sup>4</sup> a 10<sup>9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (TCID<sub>50</sub> - dosis infecciosa en cultivo tisular a la cual se produce la lisis del 50% de las células) o 10<sup>4</sup> a 10<sup>8</sup> CEID<sub>50</sub>/mL (CEID<sub>50</sub> - dosis infecciosa en embrión de polluelo a la cual se infectan el 50% de los embriones de polluelo). Todos los microorganismos (excepto los virus de la influenza) dieron lugar a resultados negativos de Flu A y Flu B. Los virus de la influenza A analizados (n = 2) dieron lugar a resultados positivos de Flu A y negativos de Flu B. Los virus de la influenza B analizados (n = 6) dieron lugar a resultados positivos de Flu B y negativos de Flu A.

<i>Acinetobacter baumannii</i> (calcoaceticus)	<i>Neisseria meningitidis</i>	Coxsackievirus Tipo A9 (Griggs)
<i>Actinobacillus suis</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Coxsackievirus Tipo A9 (P.B. Bozek)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Coxsackievirus Tipo B5 (Faulkner)
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Neisseria subflava</i>	Coxsackievirus Tipo B6 (Schmitt)
<i>Candida albicans</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Coxsackievirus Tipo A21 (Kuykendall)
<i>Candida glabrata</i>	<i>Porphyromonas asaccharolyticus</i>	Cytomegalovirus (AD-169)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	<i>Prevotella oralis</i>	Echovirus Tipo 2 (Cornelis)
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGVII	<i>Proteus mirabilis</i>	Echovirus Tipo 3 (Morrisey)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	Echovirus Tipo 6 (D'Amori)
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HSV Type 1 (HF)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	HSV Type 2 (MS)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	sub <i>minnesota</i>	Influenza A/PR/8/34 (H1N1)
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	Influenza A/Victoria/3/75 (H3N2)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Influenza B/Hong Kong/5/72
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> -Cowan 1	Influenza B/Leel/40
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Streptococcus bovis</i> II grupo D	Influenza B/Allen/45
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Influenza B/GL/1739/54
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	Influenza B/Maryland/1/59
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	Influenza B/Taiwan/2/62
<i>Kingella kingae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Virus del sarampión (Edmonston)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> grupo A	Virus de las paperas (Enders)
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	Parainfluenza Tipo 1 (Sendia/52)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. grupo B	Parainfluenza Tipo 2 (Greer)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus</i> sp. grupo C	Parainfluenza Tipo 3 (C243)
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus</i> sp. grupo F	Rhinovirus Tipo 1A (2060)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus</i> sp. grupo G	Rhinovirus Tipo 2 (HGP)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>	Rhinovirus Tipo 13 (353)

<i>Mycobacterium avium</i>	Adenovirus, Tipo 3 (GB)	Rhinovirus Tipo 15 (1734)
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Adenovirus, Tipo 5 (Adenoid 75)	Rhinovirus Tipo 16 (11757)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Adenovirus, Tipo 7 (Gomen)	Rhinovirus Tipo 37 (151-1)
<i>Mycoplasma orale</i>	Adenovirus, Tipo 10 (J.J.)	RSV Tipo A (Long)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adenovirus, Tipo 18 (D. C.)	RSV Tipo B (Wash/18537/62)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Coronavirus (229E)	VZV (Ellen)

#### Reactividad de las cepas con los virus de la influenza A y B

Se evaluó el análisis **Directigen** EZ Flu A+B mediante un panel de 39 cepas de la influenza. Todos los subtipos conocidos de hemaglutinina (15) y neuraminidasa (9) de la influenza A estaban representados en este panel. Todas las cepas humanas y animales de influenza A mostraron resultados positivos en el análisis de Flu A y resultados negativos en el análisis de Flu B. Por el contrario, todas las cepas de influenza B mostraron resultados positivos en el análisis de Flu B y resultados negativos en el análisis de Flu A.

Virus de la influenza (cepa humana)	Tipo de virus	Virus de la influenza (cepa animal)	Tipo de virus
A/NWS/33	A (H1N1)	A/Turkey/Kansas/4880/80	A (H1N1)
A/PR/8/34	A (H1N1)	A/Mallard/New York/6750/78	A (H2N2)
A1/FM/1/47	A (H1N1)	A/Turkey/England/69	A (H3N2)
A1/Denver/1/57	A (H1N1)	A/Chicken/Alabama/75	A (H4N8)
A/New Jersey/8/76 (Hsw N1)	A (H1N1)	A/Turkey/Wisconsin/68	A (H5N9)
A/Port Chalmers/1/73	A (H3N2)	A/Turkey/Canada/63	A (H6N8)
A/Victoria/3/75	A (H3N2)	A/Turkey/Oregon/71	A (H7N3)
A/Vietnam/3028/04	A (H5N1)	A/Turkey/Ontario/61 18/67	A (H8N4)
A/Thailand/MK2/04	A (H5N1)	A/Turkey/Wisconsin/66	A (H9N2)
A/Hong Kong/486/97	A (H5N1)	A/Chicken/Germany/N/49	A (H10N7)
A/California/07/2004	A (H3N2)	A/Duck/Memphis/546/74	A (H11N9)
A/California/04/09	A (H1N1)	A/Duck/Alberta/60/76	A (H12N5)
A/California/07/09	A (H1N1)	A/Gull/MD/704/77	A (H13N6)
B/Lee/40	B	A/Mallard/Gurjev/263/82	A (H14N5)
B/Allen/45	B	A/Shearwater/WA/2576/79	A (H15N6)
B/GL/1739/54	B		
B/Maryland/1/59	B		
B/Taiwan/2/62	B		
B/Mass/3/66	B		
B/Hong Kong/5/72	B		
B/Victoria/504/00	B		
B/Tokyo/53/99	B		
B/Quingdao/102/91	B		
B/Leningrad/86/93	B		

**NOTA:** No se han establecido las características de rendimiento para detectar el virus de la influenza A en muestras humanas cuando los subtipos de la influenza A emergentes como patógenos humanos son non-A/H3 y non-A/H1.

A pesar de que esta prueba ha demostrado detectar el virus H1N1 2009 cultivado a partir de una muestra humana positiva, no se han establecido las características de rendimiento de este dispositivo con muestras clínicas que son positivas al virus de la influenza H1N1 2009. **BD Directigen** EZ Flu A+B puede diferenciar entre virus de la influenza A y B, pero no puede diferenciar los subtipos de la influenza.

#### Sustancias interferentes

Se evaluaron diversas sustancias con el análisis **Directigen** EZ Flu A+B. Estas sustancias incluían sangre entera (2%) y diversas medicaciones. Con este análisis no se observó ninguna interferencia en ninguna de las sustancias analizadas.

#### Medicaciones evaluadas

Tres colutorios orales de venta sin receta al 25%	Seudoefedrina HCl (20 mg/mL)
Tres caramelos para la garganta al 25%	Guayacol-gliceril-éter (20 mg/mL)
Tres aerosoles nasales al 10%	Ibuprofeno (10 mg/mL)
4-acetamidofenol (10 mg/mL)	Oximetazolina (0,05 mg/mL)
Ácido acetilsalicílico (20 mg/mL)	Fenilefrina (1 mg/mL)
Maleato de clorfenamina (5 mg/mL)	Loratidina (100 ng/mL)
Dextrometorfano (10 mg/mL)	Difenhidramina HCl (5 mg/mL)
Fexofenadina (500 ng/mL)	Zanamivir (1 mg/mL)
Amantadina (500 ng/mL)	Rimantadina (500 ng/mL)
Albuterol (0,083 mg/mL)	Oseltamivir (500 ng/mL)
Ribavirina (500 ng/mL)	Synagis (0,1 mg/mL)

## DISPONIBILIDAD

### Nº de cat. Descripción

256050	Kit de 30 análisis <b>Directigen EZ Flu A+B</b>
220144	<b>BBL CultureSwab EZ 100</b> (torunda individual) para muestras de torundas faringreas
220115	<b>BBL CultureSwab</b> torunda individual estéril, caja de 100 unidades
220131	<b>BBL CultureSwab</b> Liquid Amies, guía de aluminio flexible, caja de 50 unidades
220134	<b>BBL CultureSwab</b> Liquid Stuart, guía de aluminio flexible, caja de 50 unidades
221819	Solución salina normal, 5 mL, caja de 100 unidades
220220	<b>BD Universal Viral Transport</b> , frasco de 3 mL, caja de 50 unidades
220250	Regular Flocked Swab, torunda individual estéril, caja de 100 unidades
220251	Minitip Flocked Swab, torunda individual estéril, caja de 100 unidades
220252	Flexible Minitip Flocked Swab, torunda individual estéril, caja de 100 unidades
256033	<b>Directigen EZ Flu A+B Control Set</b> , caja de 10 unidades

**REFERENCIAS** Ver "References" en el texto en inglés.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής /  
Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител /  
Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Аткарушы



Use by / Spotřebuje do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser  
avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes  
før / Stosować do / Utilizar em / Použít do / Usar antes de / Använd före / Исполвайте до / A se utiliza până  
la / Son kullanna tarihi / Uprotebiti do / Исползовать до / дейн пайдаланура / Uprotrebiti do /  
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /  
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /  
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned) /  
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /  
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /  
VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /  
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /  
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /  
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /  
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /  
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /  
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) /  
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden) /  
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /  
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /  
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca) /  
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /  
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet på månaden) /  
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /  
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) /  
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /  
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /  
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /  
ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /  
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalognummer / Kataloogi number / Tuotenumero /  
Número catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo  
numerus / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген  
номер / Număr de catalog / Katalog numarasi / Kataloški broj / Номер по каталогу / Katalog nөмірі



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii /  
Autoriseret representant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa  
Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-  
Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai  
Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliojatis atstovas Europos Bendrijoje /  
Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Reprezentante  
autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Reprezentante autorizado  
en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизиран представител в EU / Reprezentant  
autorizat în Uniunea Europeană / Аvrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj  
zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы  
уәклетті өкіл / Autorizuirani predstavnik u EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostik  
medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur /  
Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinische In-vitro-  
Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico  
diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie  
medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka  
na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicínsk anordning för in vitro-  
diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro  
Diyagnostik Tibbi Cihaz / Medicínski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики ин  
vitro / Жасанды жағдайда жұргізетін медициналық диагностика аспабы / Medicínska pomagala za In Vitro  
Dijagnostiku



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuur  
piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας /  
Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie  
temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura /  
Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sıcaklık sınırlaması /  
Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch code (Lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) /  
Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) /  
Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote  
(Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Partii  
Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (лот) / Топтама коды / Lot (kod)



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / K ullaldane <n> testide jaoks / Sis alt on riittav  <n> testej  varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend f r <n> Tests / Περι χει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegend  / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Cont mo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / R ckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri i in yeterli miktarda i erir / Sadr aj dovoljan za <n> testova / Достаточно для <n> тестов(a) / <n> тесттери  шін жеткілікті / Sadr aj za (n) testova



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k pou it  / L es bruksanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista k ytt ohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρ σης / Olvassa el a haszn lati utasít st / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcje u ytowania / Consulte as instru  es de utiliza  o / Pozr  Pokyny na pou ivanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na bařvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu



Becton, Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, Maryland 21152 USA  
800-638-8663  
www.bd.com/ds



Benex Limited  
Rineanna House  
Shannon Free Zone  
Shannon, County Clare, Ireland

Synagis is a trademark of MedImmune, Inc.

ViraTrans is a trademark of Trinity Biotech, PLC.

Multitrans is a trademark of Starplex Scientific, Inc.

BD, BD Logo, CultureSwab, Directigen, DispensTube and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2010 BD.

Made in China by BD.