



# Clearview<sup>®</sup> Exact Influenza A & B

## Utilização

Para detecção qualitativa e diferenciação de antígenos dos vírus influenza A e influenza B directamente a partir de esfregaços nasais. O teste é utilizado para obter um resultado visual, no sentido de auxiliar no diagnóstico de infecção por influenza A e/ou influenza B. Apenas para utilização por profissionais em diagnósticos *in-vitro*.

## Introdução

A influenza (habitualmente conhecida como “gripe”) é uma infecção viral aguda e altamente contagiosa do tracto respiratório. É uma doença transmissível que se propaga facilmente através dos processos de tosse ou esternutação (espirros) de gotículas aerossolizadas contendo vírus vivo. Os surtos de influenza ocorrem anualmente durante os meses de Outono e Inverno. Os vírus do tipo A são tipicamente mais prevalentes que os vírus do tipo B e estão associados a epidemias de influenza bastante graves, enquanto as infecções do tipo B são habitualmente mais moderadas.

O *gold standard* do diagnóstico laboratorial é a cultura celular de 14 dias com uma das múltiplas linhas celulares que podem assegurar o crescimento do vírus influenza.<sup>1</sup> A cultura celular tem, porém, utilidade clínica limitada uma vez que os resultados são obtidos numa fase demasiado tardia da evolução clínica, para uma intervenção eficaz no doente. A Reacção em Cadeia da Polimerase com Transcriptase Reversa (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* ou RT-PCR) é um método mais recente que é geralmente mais sensível que a cultura, traduzido em aumentos nas taxas de detecção na ordem dos 2-23%.<sup>2</sup> No entanto, a RT-PCR é dispendiosa, complexa e tem de ser efectuada em laboratórios especializados.

O teste **Clearview Exact Influenza A & B** proporciona uma detecção rápida e exacta dos antígenos dos vírus influenza A e B e a diferenciação entre ambos os vírus, permitindo a administração apropriada de agentes anti-víricos.

## Princípio do teste

O teste **Clearview Exact Influenza A & B** é um ensaio imunocromatográfico de membrana que utiliza a tecnologia do

ensaio em sanduíche para a detecção dos antígenos víricos influenza A e B. O teste é constituído por um dispositivo de tiras-teste contendo uma faixa de membrana que apresenta regiões separadas com anticorpos monoclonais específicos de influenza A e B imobilizados e um conjugado de coloração dourada que é igualmente constituído por anticorpos monoclonais específicos de influenza A e B.

As amostras em zaragatoa exigem uma etapa de preparação, na qual a amostra é eluída da zaragatoa para um reagente de extracção (R1). O dispositivo é então colocado na solução de extracção.

Os resultados do teste são interpretados após 15 minutos, tendo por base a presença ou ausência de linhas de coloração vermelha/rosa nas regiões de teste de influenza A e/ou B. Uma linha de controlo de cor vermelha/rosa aparece na região de controlo no espaço de 15 minutos, num ensaio válido.

## Conteúdos e armazenamento do kit

- **20/5 Dispositivos em saquetas:** Cada saqueta metálica selada contém 1 dispositivo de teste influenza A & B, 1 tubo de extracção contendo agente mucolítico e 1 pacote de dessecante
- **1 R1 de 8 ml/4 ml: reagente de extracção de esfregaço** (solução salina tamponada com detergente)
- **20/5 zaragatoas nasais de espuma**
- **1 base de trabalho em cartão**
- **1 zaragatoa de controlo positivo para Influenza A / negativo para Influenza B:** vírus influenza A inactivados dessecados sobre a zaragatoa
- **1 zaragatoa de controlo positivo para Influenza B / negativo para Influenza A:** vírus influenza B inactivados dessecados sobre a zaragatoa.
- **Folheto de Embalagem e Cartão de Procedimento**

O kit de teste pode ser armazenado refrigerado ou a uma temperatura ambiente de 20°-30°C(68°-86°F) durante o tempo de vida em prateleira. Não utilizar o teste após a data de validade.

## Materiais não fornecidos

- Relógio, temporizador ou cronómetro

## Precauções

- Não misture reagentes de diferentes lotes.
- Não utilize após a data de validade indicada na caixa do kit.

- Não reutilize o dispositivo.
- Não utilize se houver conspurcação dos dispositivos com água ou se a embalagem apresentar danos.
- Utilize apenas as zaragatoas incluídas no kit.
- Devem ser observadas, em todos os procedimentos, as directrizes padrão de manuseamento de agentes infecciosos e químicos. Todos os resíduos contaminados, tais como zaragatoas, dispositivos e extractos devem ser eliminados de acordo com os respectivos protocolos de eliminação de resíduos perigosos.
- As instruções presentes no folheto de embalagem devem ser seguidas para que se obtenham resultados exactos.
- A informação de perigo para os componentes, de acordo com as Directivas Comunitárias Europeias é a seguinte:
  - Reagente de extracção de esfregaço (R1) - Nocivo: Contém azida sódica R22 Nocivo se ingerido. S60 Este material e o respectivo recipiente que o contém têm de ser eliminados como resíduos perigosos.
  - Tubo de extracção - O tubo de extracção contém Tris(2-Carboxietil) -Fosfina HCl que é classificada como Corrosiva R34 Provoca queimaduras. S26 Em caso de contacto com os olhos, enxaguar imediata e abundantemente com água e procurar aconselhamento médico.(Nota: O tubo de extracção está isento dos requisitos de rotulagem uma vez que se encontra numa forma, que não constitui perigo quando utilizado de acordo com as instruções)
- Tira-teste – Está disponível, sob requisição, uma folha de dados de segurança para os utilizadores profissionais.
- Todos os materiais contaminados com amostras devem ser eliminados de acordo com os respectivos protocolos de eliminação de resíduos perigosos.

## Colheita e armazenamento de amostras

- Insira esta zaragatoa na narina que apresenta maior quantidade de secreções sob inspecção visual.
- Aplicando um movimento rotação delicado, empurre a zaragatoa até que encontre resistência ao nível dos cornetos (menos de uma polegada na narina).
- Rode a zaragatoa três vezes contra a parede nasal.

Recomenda-se que as amostras de esfregaço sejam processadas imediatamente após a colheita. Se as zaragatoas não forem

processadas de imediato, devem ser colocadas para armazenamento num tubo de plástico, seco, estéril e hermeticamente selado. As zaragatoas podem ser armazenadas secas à temperatura ambiente durante um máximo de 48 horas.

### Procedimento de teste

- Se tiver procedido a refrigeração, permita que o invólucro atinja a temperatura ambiente de 20°-30°C(68°-86°F) antes de abrir, por forma a evitar condensação da humidade na membrana. Deve também deixar que as amostras e os controlos do doente atinjam a temperatura ambiente antes de proceder aos testes.
- Reveja as instruções de COLHEITA DE AMOSTRAS.
- Não proceda à abertura do invólucro até que esteja pronto para testar.

1. Abra o invólucro e remova o dispositivo.

2. Coloque o tubo de extracção na base de trabalho. Segure a garrafa do reagente de extracção do esfregaço (R1), em posição vertical orientada para baixo. Aperte a garrafa e deixe que a solução passe livremente gota-a-gota para o tubo de extracção sem que toque nos bordos deste. Adicione 6 gotas de R1 ao tubo de extracção.

3. Coloque as amostras em zaragatoa no tubo de extracção. Rode a zaragatoa durante aproximadamente 10 segundos, enquanto pressiona a cabeça contra a parte interior do tubo, por forma a libertar o antigénio presente na zaragatoa.

4. Remova a zaragatoa, apertando simultaneamente a respectiva cabeça contra o interior do tubo de extracção, por forma a expelir da mesma a maior quantidade possível de líquido. Descarte a zaragatoa de acordo com o respectivo protocolo de eliminação de resíduos perigosos.

5. Insira o dispositivo no tubo de extracção com as setas direccionadas para baixo e inicie o temporizador.

6. Efectue a leitura dos resultados após 15 minutos. Pode ser evidente um forte resultado positivo antes dos 15 minutos. No entanto, para confirmar um resultado negativo é necessário o tempo completo de reacção de 15 minutos. Não efectue a leitura dos resultados após 20 minutos.

### Interpretação dos resultados

As intensidades de cor das linhas podem variar. Todas as linhas, independentemente da sua intensidade, devem ser interpretadas como linhas. A cor e a intensidade da linha podem oscilar de amostra para amostra.

As regiões da linha do influenza A, da linha B e da linha de controlo estão assinaladas como “A”, “B” e “C” respectivamente, localizadas no verso da faixa. *Consulte, por favor, a ilustração.*

**Influenza A Positivo: Aparecem duas linhas de cor vermelha/rosa** – uma na região “A” e uma na região de controlo “C”.

**Influenza B Positivo: Aparecem duas linhas de cor vermelha/rosa** – uma na região “B” e uma na região de controlo “C”.

**Influenza A e Influenza B Positivos: Aparecem três linhas de cor vermelha/rosa** – uma na região “A”, uma na região “B” e uma na região de controlo “C”.

**Negativo: Aparece apenas uma linha de cor vermelha/rosa** – na região de controlo “C”. Não é visível uma linha de cor vermelha/rosa nas regiões de influenza A ou influenza B.

**Inválido:** Não aparecem linhas coloridas na região de controlo “C” mesmo que seja visível uma linha nas regiões “A” e/ou “B”. A ausência de linha de controlo é uma indicação de erro no procedimento ou possível deterioração do reagente. Nestas circunstâncias deve ser efectuado novo teste.

### Controlo de qualidade

O teste **Clearview Exact Influenza A & B** inclui um controlo de procedimentos. O aparecimento de uma linha na região de controlo “C” assegura que foi seguido um procedimento de teste correcto, indicando assim que foi utilizado volume suficiente de fluido e que ocorreu fluxo capilar. O teste é considerado inválido se a linha de controlo não aparecer no espaço de 15 minutos.

As boas práticas laboratoriais recomendam a utilização de materiais de controlo. Os utilizadores devem seguir as directrizes adequadas a nível nacional e local, de grupos de acreditação ou procedimentos laboratoriais standard de controlo de qualidade relativos à realização de controlos externos de qualidade.

### Zaragatoas de controlo

As zaragatoas de controlo contêm vírus inactivado seco e devem ser tratadas como uma amostra em zaragatoa de um doente. Siga o Procedimento de Teste a partir da etapa 1. Elimine estas zaragatoas de acordo com o respectivo protocolo de eliminação de resíduos perigosos.

Os resultados devem ser interpretados conforme se descreve na secção “Interpretação de resultados de teste”.

Se o desempenho dos controlos não for o esperado, não interprete os resultados do teste. Repita antes o teste ou contacte o seu fornecedor local.

### Limitações do teste

- A exactidão do teste depende da qualidade da amostra em zaragatoa. Os falsos negativos podem resultar de colheita ou armazenamento inadequado de amostras.
- A utilização em elevadas concentrações de sprays nasais de venda livre pode causar interferências, conduzindo a resultados de teste incorrectos ou inválidos.
- Um resultado positivo para influenza A e/ou B não exclui uma co-infecção subjacente por outro patogénio, devendo por isso ser considerada a possibilidade de uma infecção bacteriana concomitante.
- Como acontece com todos os testes diagnósticos, um diagnóstico clínico definitivo não deve basear-se nos resultados de um único teste e deve apenas ser efectuado por um médico após todos os achados clínicos e laboratoriais terem sido avaliados.

### Valores esperados

Ocorrem mundialmente, em ambos os hemisférios norte e sul, surtos sazonais de influenza causando doença generalizada em cada Inverno. Foi estimado que a influenza ou as complicações a esta associadas, conduziram a uma média de 107,000 mortes por Inverno na União Europeia, no período entre 1989 e 1998<sup>3</sup> e determinam aproximadamente 36,000 mortes nos EUA em cada ano.<sup>4</sup> Estima-se que 10-20% dos residentes nos EUA contraíam influenza em cada ano, 114,000 dos quais são hospitalizados por complicações relacionadas com esta infecção. O número de resultados positivos encontrados em testes de influenza depende de múltiplos factores, incluindo o método de colheita de amostras, o método de teste utilizado, a localização geográfica e a prevalência da doença em localidades específicas.

## Características de desempenho

### Sensibilidade

O **Clearview Exact Influenza A & B** foi testado com as seguintes estirpes de influenza A e influenza B. Foi observada uma linha discernível na linha de teste adequada com as concentrações indicadas.

Tabela 1. Sensibilidade do **Clearview Exact Influenza A & B**

Influenza A	Limite de detecção CEID <sub>50</sub> /Teste
A/NWS/33 10 (H1N1)	2,054 x 10 <sup>3</sup>
A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	6,22 x 10 <sup>1</sup>
A2/Aichi/2/68 (H3N2)	8,43 x 10 <sup>2</sup>
A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	3,16 x 10 <sup>2</sup>
A/WS/33 (H1N1)	4,45 x 10 <sup>3</sup>
A/New Jersey/8/76 (HswN1)	2,67 x 10 <sup>2</sup>
A/Mai/302/54 (H1N1)	8,43 x 10 <sup>3</sup>

Influenza B	
Brigit	1,90 x 10 <sup>5</sup> CELD <sub>50</sub>
B/R5	1,5 EID <sub>50</sub>
B/Rússia/69	3,56 x 10 <sup>2</sup>
B/Hong Kong/5/72	3,56 x 10 <sup>1</sup>
B/Lee/40	3,16 x 10 <sup>3</sup>

CEID<sub>50</sub> / EID<sub>50</sub> = Chicken Embryo Infectious Dose (Dose Infecciosa em Embrião de Galinha), concentração que se espera que infecte metade dos animais expostos.

CELD<sub>50</sub> = Chicken Embryo Lethal Dose (Dose Letal em Embrião de Galinha), concentração que se espera que cause a morte de metade dos animais expostos.

### Especificidade

O **Clearview Exact Influenza A & B** foi testado com as seguintes estirpes víricas, bacterianas e fúngicas. Não foi observada uma linha discernível

em nenhuma das regiões da linha de teste com as concentrações indicadas.

Tabela 2. Especificidade de testes com várias estirpes víricas

Descrição	Nível de teste
Adenovírus Humano C	5,62 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Adenovírus Humano B	1,58 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Adenovírus tipo 10	3,16 x 10 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Adenovírus tipo 18	1,58 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Coronavírus Humano OC43	2,45 x 10 <sup>6</sup> LD <sub>50</sub> /ml
Coxsackievírus A9	2,65 x 10 <sup>4</sup> LD <sub>50</sub> /ml 1,58 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Coxsackievírus B5	1,58 x 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Herpesvírus Humano 5	1,58 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Ecovírus 2	3,16 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Ecovírus 3	1 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Ecovírus 6	3,16 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Vírus herpes simplex 1	1,58 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Herpesvírus Humano 2	2,81 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Rinovírus Humano 2	2,81 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Rinovírus Humano 14	1,58 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Rinovírus Humano 16	8,89 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Sarampo	1,58 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Paroiteite	1,58 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Vírus de Sendai	8,89 x 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Vírus Parainfluenza 2	1,58 x 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Vírus Parainfluenza 3	1,58 x 10 <sup>9</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Vírus Sincial Respiratório	8,89 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Vírus Sincial Respiratório Humano (Longo)	1,58 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Rubéola	2,81 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Varicela-Zoster	1,58 x 10 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /ml

TCID<sub>50</sub> = Tissue Culture Infectious Dose (Dose Infecciosa de Cultivo Tecidular) é a diluição de vírus que sob as condições do ensaio é expectável que infecte 50% dos vasos de cultivo inoculados.

LD<sub>50</sub> = Lethal Dose (Dose Letal) é a diluição de vírus que sob as condições do ensaio é expectável que cause a morte a 50% dos ratinhos lactentes inoculados.

Tabela 3. Especificidade de testes com as seguintes estirpes bacterianas e fúngicas

Estirpe	Organismos/ml
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Enterococcus faecium</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Neisseria lactamica</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Neisseria meningitidis</i> serogrupo A	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Neisseria sicca</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Neisseria subflava</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> subesp. <i>aureus</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus bovis</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>Dysgalactiae</i>	1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus oralis</i> antes <i>Streptococcus mitis</i>	1 x 10 <sup>8</sup>

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 × 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus salivarius</i>	1 × 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 × 10 <sup>8</sup>
<i>Streptococcus sp.</i> grupo F, tipo 2	1 × 10 <sup>8</sup>

Foram observados resultados negativos para todas as estirpes virais, bacterianas e fúngicas testadas, indicando pois que o **Clearview Exact Influenza A & B** é específico para os vírus influenza A e influenza B.

#### Exactidão

Foi efectuado, numa avaliação multicêntrica, um estudo do **Clearview Exact Influenza A & B** e da reacção em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR). Foram colhidos esfregaços nasais em doentes adultos e pediátricos que exibiam sintomas do tipo gripal. Um esfregaço foi utilizado para executar o teste ao **Clearview Exact Influenza A & B** e um outro foi utilizado para a análise por RT-PCR.

Os resultados para influenza A estão resumidos na Tabela 4 e os resultados para influenza B estão resumidos na Tabela 5. Sensibilidade, Especificidade e Exactidão Global Clínicas para o **Clearview Exact Influenza A & B** são calculadas com base nestes dados.

**Tabela 4. Influenza A: Correlação do Clearview Exact Influenza A & B com o RT-PCR**

	Clearview +	Clearview -	
RT-PCR +	85	19	104
RT-PCR -	2	129	131
	87	148	235

Sensibilidade = (85 / 104) = **81,7%**

Especificidade = (129 / 131) = **98,5%**

Concordância global = (214 / 235) = **91,1%**

**Tabela 5. Influenza B: Correlação do Clearview Exact Influenza A & B com o RT-PCR**

	Clearview +	Clearview -	
RT-PCR +	39	5	44
RT-PCR -	5	186	191
	44	191	235

Sensibilidade = (39 / 44) = **88,6%**

Especificidade = (186 / 191) = **97,4%**

Concordância global = (225 / 235) = **95,7%**

#### Linha de aconselhamento

Podem ser obtidas informações adicionais junto do seu distribuidor ou contactando a Assistência Técnica Inverness Medical através de:

Reino Unido: 08705 134952

Internacional: +44 (0)1234 835959

[www.clearview.com](http://www.clearview.com)