

REF PCRAE0106

Para uso con el Instrumento VitaPCR™

Para muestras de frotis nasal (FN) u nasofaríngeo (NF)

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV realizado con el instrumento VitaPCR™ es una prueba para el diagnóstico molecular rápido *in vitro* que utiliza la tecnología de amplificación mediante una reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (rRT-PCR) en tiempo real. Se utiliza para la detección cualitativa y la diferenciación de la Gripe A, la Gripe B y los ARN virales del virus sincitial respiratorio (VSR) en hisopos nasales y nasofaríngeos obtenidos de personas con signos y síntomas de infección respiratoria. Está pensado para ayudar en el diagnóstico diferencial de la Gripe común A, la Gripe B y las infecciones virales por el VSR en los seres humanos y no para detectar la Gripe C.

Los resultados no deben utilizarse como única base para el diagnóstico, el tratamiento u otras decisiones de tratamiento de los pacientes.

Si se sospecha una infección provocada por el nuevo virus de Gripe A, las muestras deben obtenerse adoptando precauciones adecuadas de control de infecciones para nuevos virus virulentos y enviarse al departamento de salud local o estatal para su análisis. El cultivo viral sólo debe intentarse en estos casos, a menos que se disponga de una instalación BSL 3+ para recibir y cultivar las muestras.

El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV está destinado a todos los profesionales de la salud.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La gripe y el VRS son las principales causas de las infecciones respiratorias. La influenza, también conocida como gripe, es una enfermedad causada por virus de la gripe. Estos son virus monocatenarios de sentido negativo con una envoltura lipídica derivada de la célula hospedadora. Los virus se transmiten principalmente por el aire a través de los estornudos o la tos, pero también pueden propagarse por medio de objetos contaminados. Los síntomas incluyen fiebre alta, congestión nasal, dolor de garganta, dolor muscular, dolor de cabeza, tos, estornudos y cansancio. Estos síntomas suelen comenzar dos días después de la exposición al virus y la mayoría duran menos de una semana.

Estos son los tres tipos de virus de la gripe que pueden infectar a los humanos: Tipo A, Tipo B y Tipo C. Basándose en las investigaciones recientes, la gripe C es menos frecuente que otros tipos y suele causar sólo enfermedades leves. Al contrario que la Gripe B, la Gripe A puede causar brotes extensos que también pueden infectar a otras especies. Los virus de tipo A se clasifican en subtipos basados en las dos glicoproteínas de superficie: la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). Por otro lado, los virus de tipo B que circulan actualmente se han clasificado en dos linajes genéticos diferenciados, conocidos como Yamagata y Victoria, y generalmente provocan epidemias solo en humanos.

El Virus Sincitial Respiratorio (RSV), miembro de la familia Pneumoviridae (antes Paramyxoviridae), es un virus de ARN envuelto con un genoma no segmentado de sentido negativo de una sola cadena. El VSR sólo causa síntomas leves en los adultos, pero puede provocar enfermedades graves en los bebés, niños pequeños y ancianos que tienen enfermedades crónicas o están inmunocomprometidos. Los síntomas del VSR incluyen congestión nasal, dolor de garganta, tos, producción de esputo, dificultad para respirar, fiebre y disminución del apetito. Es la causa más común de neumonía intersticial en bebés y niños pequeños. El VRS y el virus de la gripe son causas comunes de infección del tracto respiratorio inferior. En los bebés, se sabe que los síntomas de la infección del tracto respiratorio inferior por el VSR son más graves que los del virus de la gripe.

La prueba de diagnóstico rápido para la gripe A, la gripe B y el VRS proporcionará un tratamiento clínico eficaz y el control de la infección. El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV es una prueba de diagnóstico molecular rápida e inmediata para la detección cualitativa y la diferenciación de los ARN virales de la gripe A, la gripe B y el VSR en hisopos nasales o nasofaríngeos de los pacientes en 20 minutos.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV realizado con el Instrumento VitaPCR™ aplica la tecnología de amplificación mediante una reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (rRT-PCR) en tiempo real para detectar y diferenciar cualitativamente los ARN virales de la gripe A, la gripe B y el VSR en hisopos nasales (FN) directos y en hisopos nasofaríngeos (NF) obtenidos de pacientes. La diana de detección de la gripe A es una región conservada del gen de matriz (gen M), la de la gripe B es el gen de la proteína no estructural (gen NS) y la del RSV es la proteína nucleocápsida (gen N). El control interno (CI) compuesto por ARN sintético se incluye en el ensayo para monitorizar los procesos completos de RT-PCR.

La detección de las secuencias diana se logra mediante la medición en tiempo real de las sondas etiquetadas con fluoróforos escindidos tras la amplificación de la secuencia por pares de cebadores. Cuatro canales fluorescentes, incluyendo FAM™, VIC®, ATTO 590 y ROX™ se aplican para revelar

señal de amplificación de la gripe A, gripe B, RSV y IC, respectivamente. El tiempo de respuesta para el análisis de una muestra es de aproximadamente 20 minutos.

REACTIVOS Y MATERIALES

Materiales suministrados

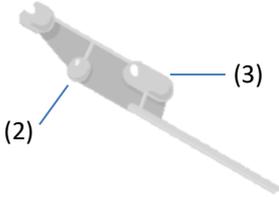
	<p>Tampón de obtención de muestras VitaPCR™_A: Tubo de plástico con tapón roscado que contiene 4 ml de tampón de obtención de muestras.</p>
	<p>Tubo de reactivo: Tubo de ensayo transparente con reactivos liofilizados para la amplificación específica de los ARN virales de la gripe A, la gripe B y el RSV.</p>
	<p>Tapón para tubo de reactivo: Tapón de plástico utilizado para cerrar herméticamente el tubo de reactivo una vez añadida la muestra.</p>
<p>Guía de consulta rápida para el ensayo VitaPCR™ Flu/RSV.</p>	

Materiales necesarios no suministrados

	<p>Instrumento VitaPCR™</p>
	<p>Gradilla</p>
	<p>Adaptador de alimentación (ENTRADA: 100-240 V CA, 2,0 máx., 50- 60Hz. SALIDA: 12Vcc, 5A)</p>
<p>Manual de usuario del instrumento VitaPCR™ Guía de consulta rápida del Instrumento VitaPCR™</p>	

Materiales no suministrados para comprar por separado

	<p>Hisopo estéril: El hisopo debe cumplir la Directiva CE y los requisitos de las normativas para productos sanitarios.</p>
---	--

	<p>Pipeta de transferencia: Componente plástico desechable de un solo uso con tres perillas de aire. La perilla superior (1) se utiliza para succionar y liberar la solución. La perilla central (2) se utiliza para pipetear. La perilla inferior (3) es la cámara de desbordamiento. Se utiliza para transferir la muestra eluida desde el tampón de obtención de muestras al tubo de reactivo.</p>
	<p>Pipeta ajustable y punta de filtro: Se utiliza para transferir el extracto de la muestra desde el tampón de obtención de muestras al tubo de reactivo.</p>

Materiales disponibles no suministrados

Hay disponibles controles positivos y negativos externos, aunque no se suministren con este ensayo.

- Control positivo de la gripe A y B: ZeptoMetrix® Inc. NATtrol™ Gripe A/B Control Positivo (ZeptoMetrix® Inc., Cat # NATFLUAB-6C).
- Control positivo RSV: ZeptoMetrix® Inc. NATtrol™ Control Positivo RSV (ZeptoMetrix® Inc., Cat # NATRSV-6C).
- Control negativo: Credo Diagnostics Biomedical Pte. Ltd. Tampón de obtención de muestras VitaPCR™_A (proporcionado con el ensayo).

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro.
2. Para uso exclusivo con el Instrumento VitaPCR™.
3. Usar guantes protectores y otros equipos de protección individual antes de realizar la prueba.
4. La obtención, el almacenamiento y el transporte adecuados de las muestras son fundamentales para obtener resultados correctos. Utilizar únicamente los tipos de muestras validadas, descritas en Uso previsto.
5. Sólo usen muestras de hisopos secos y NO utilicen los hisopos previamente almacenados en VTM o UTM.
6. Tratar todas las muestras como material potencialmente infeccioso. Respetar las instrucciones universales para la manipulación de las muestras, este kit y su contenido. Consultar las directrices para la manipulación de muestras.
7. Si se sospecha infección provocada por un nuevo virus de la gripe de tipo A o B basándose en el conocimiento actual, las muestras deben obtenerse adoptando precauciones adecuadas de control de infecciones para nuevos virus virulentos y enviarse al departamento de salud local o estatal para su análisis. En estos casos no debe intentarse cultivar el virus a menos que se disponga de instalaciones con un nivel de bioseguridad 3+.
8. Todos los materiales del kit son elementos de un solo uso. No aplicar en más de una muestra.
9. NO tocar las puntas de los hisopos para muestras. La contaminación puede ocurrir e interferir con la realización de la prueba.
10. El kit NO debe utilizarse después de la fecha de caducidad.
11. NO abrir el precinto de los tubos de reactivo antes de realizar el ensayo.
12. Evitar el contacto de los ojos y la piel con el tampón de recogida de muestras. En caso de contacto con los ojos o la piel, enjuaguen con cuidado con agua durante varios minutos.
13. En caso de que se vierta el tampón de obtención de muestras al abrirlo, limpien el área de trabajo siguiendo las instrucciones suministradas en el Manual de Usuario del equipo. Volver a empezar el ensayo con un nuevo tampón de obtención de muestras.
14. Si algún componente del ensayo se cae, se agrieta, se encuentra dañado o abierto al recibirlo, NO UTILIZAR y desechar. No utilizar tijeras ni objetos afilados para abrir las bolsas de aluminio, ya que pueden dañarse las piezas del ensayo.
15. No dejar nada en la gradilla o en el dispositivo una vez realizado el ensayo. Desháganse inmediatamente del tubo de reactivo y NO intenten abrir la tapa del tubo de reactivo cuando terminen la prueba. De acuerdo con las instrucciones de eliminación descritas en el manual de usuario del dispositivo, observen las normas de su país, estado y localidad para eliminar los componentes.
16. Las muestras con sangre visible pueden interferir en el rendimiento del ensayo.
17. En raras ocasiones, las muestras analizadas pueden contener inhibidores que impiden la realización del ensayo. La tasa de fallos es un resultado que varía caso por caso.
18. Las muestras positivas previamente analizadas que se dejen alrededor del área de trabajo pueden provocar resultados falsos positivos. Manejen las muestras refiriéndose al protocolo establecido por el laboratorio. Limpien el dispositivo y las zonas adyacentes según las instrucciones del manual de usuario.

CONTROL DE CALIDAD

Control Interno (CI)

El control interno que comprueba todo el proceso de RT-PCR está incluido en cada tubo de reactivo. El control interno supervisa la validez del reactivo en las reacciones de RT-PCR y PCR asociadas a la muestra. Entre todos los resultados generales, el control interno muestra la señal constantemente. En algunas circunstancias especiales, es posible que la diana sea detectada sin señal de control interno debido a la inhibición molecular.

Controles positivos y negativos externos

Hay disponibles controles positivos y negativos externos, aunque no se suministren con este ensayo.

- Control positivo de la gripe A y B: ZeptoMetrix® Inc. NATtrol™ Gripe A/B Control Positivo (ZeptoMetrix® Inc., Cat # NATFLUAB-6C).
- Control positivo RSV: ZeptoMetrix® Inc. NATtrol™ Control Positivo RSV (ZeptoMetrix® Inc., Cat # NATRSV-6C).
- Control negativo: Credo Diagnostics Biomedical Pte. Ltd. Tampón de obtención de muestras VitaPCR™_A (proporcionado con el ensayo).

Utilizar la pipeta para transferir el control positivo externo al Tampón de Obtención de Muestras (SCB). Estos controles deben analizarse cada vez que se reciben nuevos envíos de kits o se realiza la formación de un nuevo operador, y de conformidad con los procedimientos de control de calidad del laboratorio y con las normativas locales, estatales o federales, los organismos de acreditación y los procedimientos normalizados de control de calidad del laboratorio.

En caso de que falle el análisis de control de calidad externo, repetir el ensayo o ponerse en contacto con el distribuidor local.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacenar el kit de reactivo a 5-25°C. El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV permanece estable hasta antes de la fecha de caducidad indicada en el embalaje exterior y en los envases. Comprobar que todos los materiales del ensayo han alcanzado la temperatura ambiente antes de su uso.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y MANIPULACIÓN

Utilizar muestras recién obtenidas para un rendimiento óptimo del ensayo. La obtención de una cantidad insuficiente de muestra o una manipulación/un almacenamiento/un transporte inadecuados pueden derivar en resultados erróneos.

Para un rendimiento óptimo del ensayo, utilizar ÚNICAMENTE hisopos que cumplan los requisitos de la Directiva CE relativa a los productos sanitarios. Para evitar las interferencias, no utilizar hisopos con varillas de madera o hisopos de alginato de calcio, ya que pueden contener inhibidores de la reacción. Recomendamos encarecidamente el uso de hisopos flocados o hisopos de fibra sintética con varillas de plástico.

Frotis nasal

Para obtener una muestra de frotis nasal, introducir con cuidado el hisopo en el orificio nasal que muestre mayor secreción o, si esta no es visible, el que esté más congestionado. Mediante una suave rotación, introducir el hisopo hasta el cornete (menos de 2,5 cm hacia el interior del orificio). Frotar el hisopo varias veces contra la pared nasal y retirar lentamente del orificio nasal.

Frotis nasofaríngeo (frotis NF)

Introducir con cuidado el hisopo en el orificio nasal y desplazarlo directamente hacia la parte posterior, sin inclinar la punta del hisopo hacia arriba ni hacia abajo. Mediante una suave rotación, introducir en las fosas nasales anteriores en paralelo al paladar y hacer avanzar el hisopo hacia la nasofaringe; dejar colocado unos segundos y, a continuación, girar lentamente el hisopo a medida de que se retira. Para garantizar una obtención adecuada, el hisopo debe recorrer una distancia que represente la mitad de la distancia desde la nariz hasta la punta de la oreja. NO APLICAR FUERZA al introducir el hisopo.

TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras obtenidas con el hisopo deben analizarse lo antes posible. Si no es posible realizar pruebas inmediatas, consulten las siguientes directrices para el transporte y el almacenamiento:

1. La muestra en hisopo se almacena a 2°C - 25°C hasta 3 días.
2. Las muestras eluidas en el tampón de obtención de muestras pueden ser almacenadas a:
 - 2°C - 25°C hasta 7 días.
 - -80°C hasta 7 días.

No se recomiendan los hisopos de pacientes previamente almacenados en VTM o UTM ya que invalidarían la prueba.

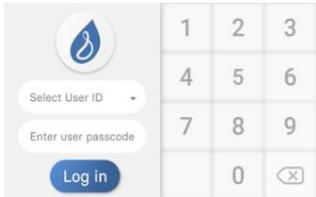
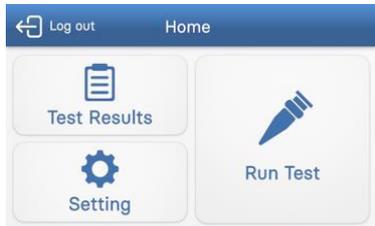
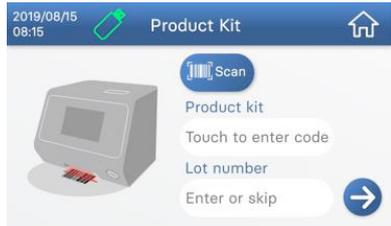
Nota: Mantengan la muestra a la temperatura indicada anteriormente. No congelen y descongelen las muestras repetidamente.

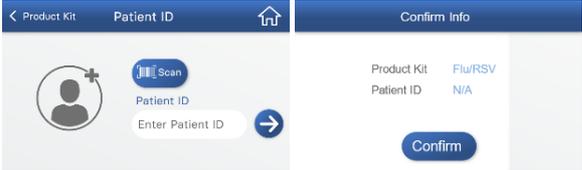
PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Antes de realizar el ensayo con VitaPCR™ Flu/RSV:

- Permitir que todas las muestras alcancen la temperatura ambiente.
- Permitir que todos los materiales del ensayo alcancen la temperatura ambiente.

Para obtener resultados mejores, los frotis nasales o nasofaríngeos deben analizarse **inmediatamente** después de su obtención.

<p>Colocar el Instrumento VitaPCR™ en una superficie plana. Encender el Instrumento VitaPCR™ pulsando el botón de encendido situado en su parte frontal.</p>	
<p>Seleccionar la ID del usuario ["Select User ID"]. Introducir la contraseña del usuario ["Enter User Passcode"].</p>	
<p>Pulsar "Run Test" (Ejecutar ensayo).</p>	
<p>Leer el código de barras del paquete de reactivos utilizando el lector de códigos de barras integrado en la parte frontal inferior del Instrumento VitaPCR™.</p>	

<p>Leer o teclear la ID del paciente ["Patient ID"]. Confirmar el kit de producto ["Product Kit"] y la ID del paciente ["Patient ID"].</p>	
<p>1. Etiquetar el vial del tampón con la ID del paciente y la fecha.</p>	
<p>2. Desenroscar el tapón del vial de tampón.</p>	
<p>3. Introducir los hisopos nasofaríngeos u nasales en el vial de tampón. Frotar el hisopo contra la pared del vial al menos 15 veces. Desechar el hisopo.</p>	
<p>4. Volver a enroscar el tapón del vial de tampón.</p>	
<p>5. Agitar suavemente el vial del tampón 10 veces. Colocar el vial de tampón en la gradilla.</p>	
<p>6. Abrir el precinto de los reactivos y sacar el tubo de reactivo Golpear suavemente el tubo para confirmar que el reactivo quede en el fondo del tubo de reactivo.</p>	

7. Colocar el vial de tampón y el tubo de reactivo en la gradilla.



Escoger la pipeta que se va a utilizar.



Pipeta ajustable y punta de filtro

Pipeta de transferencia

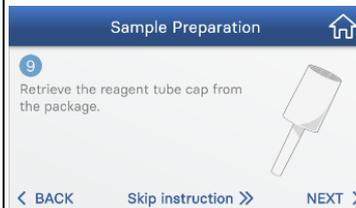
8. Retirar el precinto de aluminio del tubo de reactivo.
Desenroscar el tapón del vial de tampón.



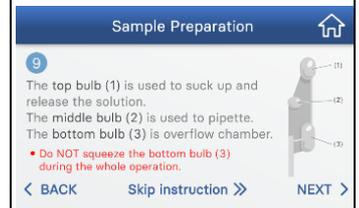
8. Retirar el precinto de aluminio del tubo de reactivo.
Desenroscar el tapón del vial de tampón.
Recuperar la pipeta del paquete.



9. Extraer la tapa del tubo de reactivo del paquete.

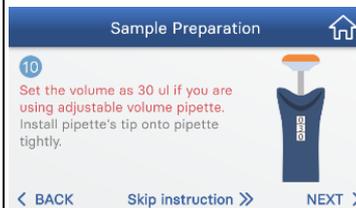


9. La **perilla superior (1)** se utiliza para succionar y liberar la solución.
La **perilla central (2)** se utiliza para pipetear.
La **perilla inferior (3)** es la cámara de desbordamiento.



• **NO aprieten la perilla inferior (3) durante toda la operación.*

10. Establecer el volumen en **30 µL** si se está usando una pipeta de volumen ajustable.



10. Apretar firmemente la **perilla superior (1)** y no la suelten.

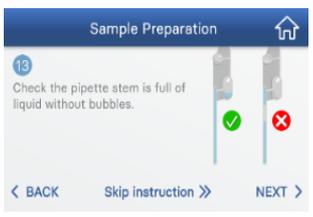
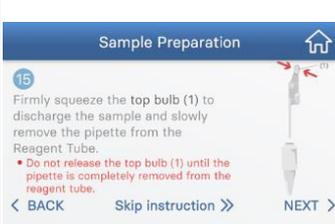
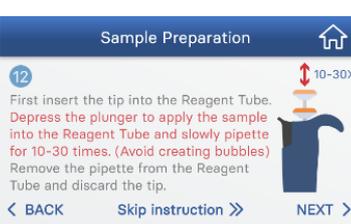
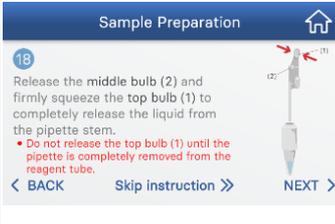
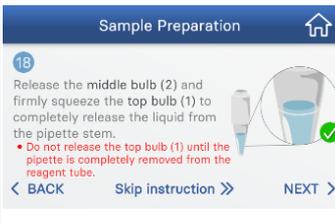


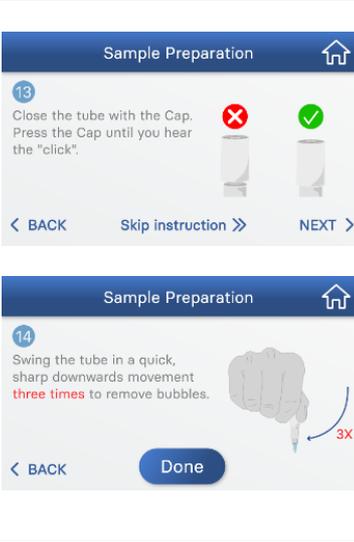
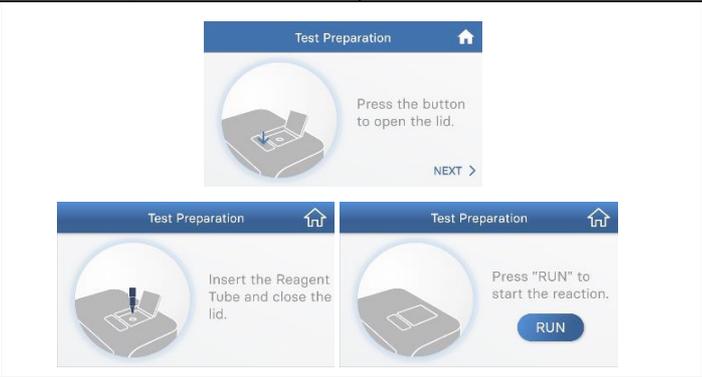
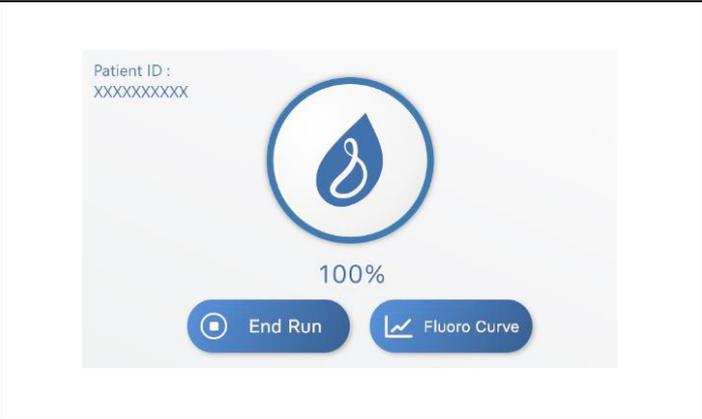
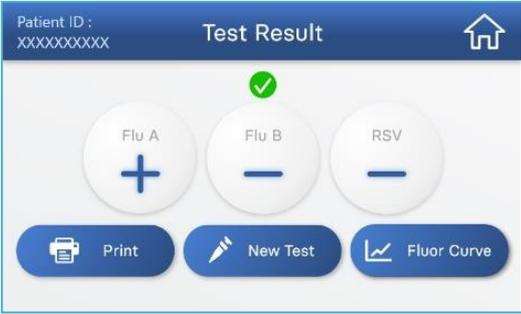
Colocar firmemente la punta en la pipeta.



11. Mantener la **perilla superior (1)** apretada y sumergir la punta de la pipeta debajo del nivel del **tampón de obtención de muestras**.



		<p>12. Mantener la punta de la pipeta debajo del nivel del líquido y soltar suavemente la perilla superior (1).</p> <p>13. Comprobar que la pipeta esté llena de líquido sin burbujas.</p>	 
<p>11. Mantener el émbolo presionado e insertar la punta en el tampón de obtención de muestras.</p> <p>Liberar lentamente el émbolo para aspirar el líquido.</p> <p>*No debe haber presencia de burbujas en la punta.</p>	 	<p>14. Introducir la punta de la pipeta en el Tubo de Reactivo.</p> <p>15. Apretar firmemente la perilla superior (1) para soltar la muestra y retirar lentamente la pipeta del tubo de reactivo.</p> <ul style="list-style-type: none"> *NO soltar la perilla superior (1) hasta que la pipeta se haya retirado completamente del tubo de reactivo. <p>16. Apretar firmemente la perilla central (2) y sumergir la punta de la pipeta debajo del nivel del tampón de obtención de muestras.</p> <p>17. Soltar y apretar continuamente la perilla central (2) hasta pipetear de 10 a 30 veces y disolver el reactivo en la muestra.</p>	   
<p>12. Primero insertar la punta en el tubo de reactivo.</p> <p>Presionar el émbolo para aplicar la muestra en el Tubo de Reactivo y pipetear lentamente 10 - 30 veces.</p> <p>*Nota: Evitar la creación de burbujas</p> <p>Retirar la pipeta del tubo de reactivo y desechar la punta.</p>	 	<p>18. Soltar la perilla central (2) y apretar firmemente la perilla superior (1) hasta dispensar completamente el líquido de la pipeta.</p> <ul style="list-style-type: none"> *No soltar la perilla superior (1) hasta que la pipeta se haya retirado completamente del tubo de reactivo. 	 

<p>13. Cerrar el tubo con el tapón. Presionar el tapón hasta que se oiga un "clic".</p> <p>*Nota: Asegúrense de que no haya ningún espacio entre el tapón y el tubo de reactivo.</p> <p>14. Agitar el tubo con un movimiento rápido y brusco hacia abajo, tres veces, para eliminar las burbujas.</p>		<p>19. Recuperar el tapón de reactivo. Cerrar el tubo con el tapón (presionar el tapón hasta que se oiga un "clic").</p> <p>*Nota: Asegúrense de que no haya ningún espacio entre el tapón y el tubo de reactivo.</p> <p>20. Agitar el tubo con un movimiento rápido y brusco hacia abajo, tres veces, para eliminar las burbujas.</p>	
<p>Pulsar el botón para abrir la tapa.</p> <p>Introducir el tubo de reactivo y cerrar la tapa.</p> <p>Pulsar "RUN" (ejecutar) para iniciar la reacción.</p>			
<p>Comprobar que el porcentaje de progreso del proceso indicado en la pantalla del instrumento VitaPCR™ va aumentando. La barra de progreso se vuelve azul cuando la reacción está en curso.</p> <p>Nota:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La pantalla seguirá mostrando el porcentaje hasta completarse el 100 %. El instrumento VitaPCR™ emitirá un sonido al final del procedimiento analítico. • Durante la reacción, la tapa está bloqueada. No intentar volver a abrir la tapa del instrumento VitaPCR™ hasta que la pantalla indique que se ha completado el ensayo. • Para cancelar el ensayo, pulsar "End Run" (finalizar ensayo) y esperar a que se muestren las indicaciones en la pantalla. • No mueva ni desconecte el instrumento VitaPCR™ mientras el ensayo está en curso. 			
<p>Interpretación de los resultados:</p>  <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid #00a0e3; border-radius: 15px; padding: 10px; text-align: center;"> <p>Positive</p> <p>+</p> </div> <div style="border: 1px solid #00a0e3; border-radius: 15px; padding: 10px; text-align: center;"> <p>Negative</p> <p>-</p> </div> <div style="border: 1px solid #00a0e3; border-radius: 15px; padding: 10px; text-align: center;"> <p>INVALID:</p> </div> </div> <p>*Nota: Pulsar "New Test" para iniciar un nuevo ensayo.</p>			

LIMPIEZA DEL EQUIPO

Recomendamos limpiar el Instrumento VitaPCR™ todos los días después de su uso.

Procedimiento:

1. Desconectar el cable de alimentación tanto de la toma eléctrica como de VitaPCR™.
2. Cerrar la tapa.
3. Utilizar etanol al 70 % o una toallita germicida desechable para limpiar las superficies exteriores de VitaPCR™ y retirar el polvo

NOTA: No presionen la toallita contra las ranuras de ventilación del instrumento VitaPCR™.

4. Con un paño nuevo, limpiar la parte frontal de VitaPCR™, dando dos pasadas de arriba abajo y otras dos de izquierda a derecha. Repetir este procedimiento para las partes posterior, superior e inferior de VitaPCR™.
5. No dejen que se acumule líquido alrededor de ninguna abertura. Asegúrese de que no entre líquido en el dispositivo.
6. Dejar que la unidad se seque durante al menos 10 minutos y comprobar que esté totalmente seca antes de volver a conectar el cable de alimentación del adaptador de CA.

LIMITACIONES

- El rendimiento del ensayo VitaPCR™ Flu/RSV está determinado por los procedimientos descritos en este documento. La falta de observación de las instrucciones puede alterar el rendimiento del ensayo.
- El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV está diseñado para su uso exclusivo con muestras de frotis nasal o nasofaríngeo.
- La obtención, el almacenamiento o el transporte inadecuados de las muestras puede dar lugar a resultados falsos negativos.
- Los resultados del ensayo deben interpretarse junto con los antecedentes, los signos y síntomas y los resultados de otros ensayos diagnósticos.
- Tal y como ocurre en otros ensayos, un resultado negativo no excluye infecciones por gripe A, gripe B y RSV y no debe utilizarse como única base para decidir el tratamiento del paciente.
- Puede obtenerse un resultado falso negativo en caso de que los niveles de virus sean inferiores al límite de detección.
- Puede obtenerse un resultado falso negativo en caso de que se acumulen mutaciones en la región diana del ensayo.
- La presencia de inhibidores en la muestra puede dar lugar a un resultado inválido.
- El rendimiento del ensayo no se ha evaluado en pacientes que habían recibido la vacuna inhalada contra la gripe.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica (límite de detección, LdD)

El LdD de A/California/7/2009, A/Wisconsin/67/2005, B/Malaysia/2506/2004, B/Wisconsin/1/2010, RSV A/long/MD/56, RSV B/CH93(18)-18 ha sido respectivamente de 3.95×10^1 (TCID₅₀/mL), 1.58×10^2 (TCID₅₀/mL), 3.95×10^1 (TCID₅₀/mL), 5.62×10^2 (TCID₅₀/mL), 1.46×10^1 (TCID₅₀/mL) y 1.33×10^6 (Copias/mL). El LdD de cada cepa de virus ha sido confirmado por 20 réplicas y con al menos un 95% de tasa de detección. Este estudio ha verificado que no se han producido resultados falsos positivos en las cepas de gripe y RSV analizadas. En conclusión, este estudio ha comprobado el LdD de seis cepas de virus. El virus se ha detectado de forma reproducible en cada nivel de LdD.

Cepa vírica	Subtipo / Linaje	TCID ₅₀ /mL Copias/mL	TCID ₅₀ /Hisopo * Copias/Hisopo *	Resultado de la señal de la gripe A (positivo / Réplicas)	Gripe A Ct MEDIA	Resultado de la señal de la gripe B (positivo / Réplicas)	Gripe B Ct MEDIA	Resultado de la señal del RSV (positivo / Réplicas)	RSV Ct MEDIA
Gripe A/California/7/2009	H1N1pdm09	$3,95 \times 10^1$ TCID ₅₀ /mL	$3,95 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /Hisopo	20/20	36,67	0/20	-	0/20	-
Gripe A/Wisconsin/67/2005	H3N2	$1,58 \times 10^2$ TCID ₅₀ /mL	$1,58 \times 10^0$ TCID ₅₀ /Hisopo	19/20	35,20	0/20	-	0/20	-
Gripe B/Wisconsin/01/2010	Yamagata	$5,62 \times 10^2$ TCID ₅₀ /mL	$5,62 \times 10^0$ TCID ₅₀ /Hisopo	0/20	-	20/20	34,62	0/20	-
Gripe B/Malaysia/2506/2004	Victoria	$3,95 \times 10^1$ TCID ₅₀ /mL	$3,95 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /Hisopo	0/20	-	19/20	36,32	0/20	-
RSV A/long/MD/56	-	$1,46 \times 10^1$ TCID ₅₀ /mL	$1,46 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /Hisopo	0/20	-	0/20	-	20/20	34,19
RSV B/CH93(18)-18	-	$1,33 \times 10^6$ Copias/mL	$1,33 \times 10^4$ Copias/Hisopos	0/20	-	0/20	-	20/20	36,30

*: 10 µl de cada dilución de virus se ha incorporado al hisopo.

Reactividad analítica (inclusión)

La inclusividad del ensayo VitaPCR™ Flue/RSV ha sido verificada por 4 cepas diferentes de virus de la gripe A y B. La concentración más baja con resultado positivo se ha indicado en la Tabla siguiente. Todas las cepas han revelado los esperados resultados consistentes en pruebas por triplicado en la concentración indicada. En conclusión, el ensayo VitaPCR™ Flu/RSV ha identificado correctamente múltiples cepas de la gripe A y la gripe B. El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV ha mostrado la capacidad de detectar diversas cepas de la gripe A y la gripe B.

Cepa vírica	Subtipo / Linaje	TCID ₅₀ /mL	TCID ₅₀ /Hisopo *	Resultado de la señal de la gripe A (positivo / Réplicas)	Gripe A Ct MEDIA A	Resultado de la señal de la gripe B (positivo / Réplicas)	Gripe B Ct MEDIA A	Resultado de la señal del RSV (positivo / Réplicas)	RSV Ct MEDIA A
Gripe A/California/7/2009	H1N1pdm09	$5,00 \times 10^3$	$5,00 \times 10^1$	3/3	34,67	0/3	-	0/3	-
Gripe A/Wisconsin/67/2005	H3N2	$1,78 \times 10^2$	$1,78 \times 10^0$	3/3	35,33	0/3	-	0/3	-
Gripe B/Wisconsin/01/2010	Yamagata	$8,90 \times 10^2$	$8,80 \times 10^0$	0/3	-	3/3	34,67	0/3	-
Gripe B/Malaysia/2506/2004	Victoria	$7,90 \times 10^1$	$7,90 \times 10^{-1}$	0/3	-	3/3	35,00	0/3	-

*: 10 µl de cada dilución de virus se ha incorporado al hisopo.

Especificidad analítica (reactividad cruzada)

Este estudio ha verificado que no se han producido resultados falsos positivos en 34 microorganismos analizados en las concentraciones enumeradas. El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV ha identificado correctamente todas las muestras. Los resultados de los microorganismos han sido negativos en la concentración indicada. El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV no ha reaccionado con 34 patógenos respiratorios potenciales.

Microorganismo	Concentración analizada	Resultados positivos de la Gripe A / Analizados	Resultados positivos de la Gripe B / Analizados	Resultados positivos del RSV / Analizados
<i>Escherichia coli</i>	,	0/3	0/3	0/3
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,10x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,30x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.00x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,10x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,20x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,10x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,20x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,10x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Neisseria sp.</i>	1,20x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Bordetella pertussis</i>	1,20x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Lactobacillus sp.</i>	1,30x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,00x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Corynebacterium sp.</i>	5,00x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1.00x10 ⁹ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	7.30x10 ⁶ CFU/mL	0/3	0/3	0/3
Adenovirus tipo 1	5.62x10 ⁸ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Adenovirus tipo 2	1,15x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Adenovirus tipo 3	3,16x10 ⁸ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Adenovirus tipo 4	2,19x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Adenovirus tipo 7	7,50x10 ⁸ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Adenovirus tipo 14	2,45x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Enterovirus A71	1,16x10 ⁹ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Parainfluenza humana tipo 1	2,11x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Parainfluenza humana tipo 2	2,00x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Parainfluenza humana tipo 3	3,57x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Rinovirus tipo A	1,17x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Coronavirus humano OC43	3,00x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Coronavirus humano 229E	3,16x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Citomegalovirus	5,01x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Sarampión	4,17x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Metapneumovirus humano	2,19x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3
Virus de la parotiditis	1,26x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	0/3	0/3	0/3

Sustancia interferente

Las sustancias interferentes evaluadas se enumeran a continuación en las concentraciones comprobadas. En conclusión, este estudio ha verificado que no se han producido resultados falsos negativos o falsos positivos en 14 sustancias interferentes potenciales analizadas en las concentraciones enumeradas. El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV ha identificado correctamente la muestra positiva y las muestras negativas de la gripe. No se han producido efectos de estas sustancias interferentes en la concentración indicada.

Sustancia interferente	Concentración	Muestras negativas		
		Resultado de la Gripe A / Analizado	Resultados de la Gripe B / Analizado	Resultado del RSV/Analizado
Mucina	0,05%	0/3	0/3	0/3
Sangre entera	0,10%	0/3	0/3	0/3
Salina normal (0,65%)	15%	0/3	0/3	0/3
Furoato de fluticasona	0,25%	0/3	0/3	0/3
Oximetazolina aerosol nasal	15%	0/3	0/3	0/3
Zanamivir (Relenza)	282 ng/mL	0/3	0/3	0/3
Tobramicina	2.4 mg/mL	0/3	0/3	0/3
Mupirocina	12 mg/mL	0/3	0/3	0/3
Clorhidrato de fenilefrina	3 mg/mL	0/3	0/3	0/3
Clorhidrato de amantadina	282 ng/mL	0/3	0/3	0/3
Dexametasona	0.4 mg/mL	0/3	0/3	0/3
Mentol	3.125 ng/mL	0/3	0/3	0/3
Oseltamivir (Tamiflu)	550 ng/mL	0/3	0/3	0/3
Zicam Extreme Alivio de la Congestión	5%	0/3	0/3	0/3

Sustancia interferente	Concentración	Muestras positivas					
		Resultado de la Gripe A		Resultados de la Gripe B		Resultado del RSV	
		A/California/07/2009 (H1N1pdm09)	A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	B/Malaysia/2506/2004 (B/Victoria)	B/Wisconsin/1/2010 (B/Yamagata)	RSV A/long/MD/56	RSV B/CH93(18)-18
Mucina	0,05%	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Sangre entera	0,10%	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Salina normal (0,65%)	15%	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Furoato de fluticasona	0,25%	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Oximetazolina aerosol nasal	15%	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Zanamivir (Relenza)	282 ng/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Tobramicina	2.4 mg/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Mupirocina	12 mg/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Clorhidrato de fenilefrina	3 mg/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Clorhidrato de amantadina	282 ng/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Dexametasona	0.4 mg/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Mentol	3.125 ng/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Oseltamivir (Tamiflu)	550 ng/mL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Zicam Extreme Alivio de la Congestión	5%	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3

2xLdD Gripe A: A/California/7/2009 (H1N1pdm09): 10 µL de $7,90 \times 10^1$ TCID₅₀/mL
2xLdD Gripe A: A/Wisconsin/67/2005 (H3N2): 10 µL de $3,16 \times 10^2$ TCID₅₀/mL
2xLdD Gripe B: B/Malaysia/2506/2004 (B/Victoria): 10 µL de $7,90 \times 10^1$ TCID₅₀/mL
2xLdD Gripe B: B/Wisconsin/1/2010 (B/Yamagata): 10 µL de $2,81 \times 10^3$ TCID₅₀/mL
2xLdD RSV: RSV A/long/MD/56: 10 µL de $2,93 \times 10^1$ TCID₅₀/mL
2xLdD RSV: RSV B/CH93(18)-18: 10 µL de $2,67 \times 10^6$ Copias/mL

Verdadero negativo: Matriz clínica natural sin virus

Patógenos no diana interferentes

Este estudio ha verificado que no se han observado efectos inhibidores competitivos a 2xLdD para cada una de las cepas diana analizadas con alta concentración de cepas competitivas individuales. No se han obtenido resultados falsos positivos o falsos negativos. El ensayo VitaPCR™ Flu/RSV ha identificado correctamente todas las muestras. No se han producido interferencias de estos virus competitivos en la concentración indicada.

Cepa diana		Cepa competitiva		Resultado		
Cepa vírica	Concentración	Cepa interferente	Concentración	Resultado de la Gripe A / Analizado	Resultados de la Gripe B / Analizado	RSV Resultado/ Analizado
NTC	NA	NA	NA	0/0	0/0	0/0
A/California/7/2009	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	NA	NA	3/3	0/0	0/0
A/California/7/2009	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	B/Malaysia/2506/2004	3,16x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	3/3	3/3	0/0
A/California/7/2009	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	RSVA/long/MD/56	1,46x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	3/3	0/0	3/3
A/California/7/2009	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	RSV B/CH93(18)-18	5,32x10 ⁵ (copia/Hisopo)	3/3	0/0	3/3
B/Malaysia/2506/2004	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	NA	NA	0/0	3/3	0/0
B/Malaysia/2506/2004	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	A/California/7/2009	3,16x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	3/3	3/3	0/0
B/Malaysia/2506/2004	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	RSVA/long/MD/56	1,46x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	0/0	3/3	3/3
B/Malaysia/2506/2004	7,9x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	RSV B/CH93(18)-18	5,32x10 ⁵ (copia/Hisopo)	0/0	3/3	3/3
RSVA/long/MD/56	2,92x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	NA	NA	0/0	0/0	3/3
RSVA/long/MD/56	2,92x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	A/California/7/2009	3,16x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	3/3	0/0	3/3
RSVA/long/MD/56	2,92x10 ⁻¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	B/Malaysia/2506/2004	3,16x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	0/0	3/3	3/3
RSV B/CH93(18)-18	2,66x10 ⁴ (copia/Hisopo)	NA	NA	0/0	0/0	3/3
RSV B/CH93(18)-18	2,66x10 ⁴ (copia/Hisopo)	A/California/7/2009	3,16x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	3/3	0/0	3/3
RSV B/CH93(18)-18	2,66x10 ⁴ (copia/Hisopo)	B/Malaysia/2506/2004	3,16x10 ¹ (TCID ₅₀ /Hisopo)	0/0	3/3	3/3

Rendimiento clínico

Debido a la dificultad de obtener muestras clínicas, las características de rendimiento del Ensayo VitaPCR™ Flu/RSV se han evaluado utilizando muestras clínicas artificiales. Las diluciones de virus se han preparado utilizando las existencias de Gripe A/California/07/2009 (H1N1pdm09), Gripe B/Malasia/2506/2004 (B/Victoria), RSV A/long/MD/56 y RSV B/CH93(18)-18 diluido en UTM: negativo, 2x, 3x y 5x LdD. Se han preparado muestras de hisopos NF de virus artificiales aplicando 10 µL de virus diluido (negativo, 2x, 3x y 5x LdD) en cada hisopo individual. Seis de las muestras NF artificiales se han enriquecido con un virus diana a 2x LdD, tres de las muestras NF artificiales se enriquecieron a 3x LdD, y tres de las muestras NF artificiales se han enriquecido a 5x LdD, por cada panel de virus de la gripe A, la gripe B y el virus RSV. Doce de las muestras NF no se han enriquecido con ningún virus. Todas las 60 muestras NF se han analizado en ciego y se han transmitido a los operadores para ser analizadas. Los hisopos con y sin el virus sembrado se han eluido en SCB con una matriz clínica individual negativa única, y se han probado más a fondo utilizando el Ensayo VitaPCR™ Flu/RSV siguiendo las instrucciones de uso.

Muestras nasofaríngeas (NF)		Muestra clínica artificial	
Variable	Estado	Positivo	Negativo
Ensayo VitaPCR™ Flu/RSV	Positivo	48	0
	Negativo	0	12
Porcentaje de concordancia positiva (PCP) (CI del 95 %) ¹		100% (92.6-100)	
Porcentaje de concordancia negativa (PCN) (CI del 95 %) ²		100% (73.5-100)	
Porcentaje de concordancia global (PCG) (CI del 95 %) ³		100% (94.0-100)	
Nota: 1 Porcentaje de concordancia positiva = $[\text{positivos reales} / (\text{positivos reales} + \text{falsos negativos})] * 100 \%$ 2 Porcentaje de concordancia negativa = $[\text{negativos reales} / (\text{negativos reales} + \text{falsos positivos})] * 100 \%$ 3 Porcentaje de concordancia global = $[(\text{positivos reales} + \text{negativos reales}) / (\text{positivos reales} + \text{falsos negativos} + \text{negativos reales} + \text{falsos positivos})] * 100 \%$			

SÍMBOLOS

	No reutilizar		Fabricante
	Consúltense las instrucciones de uso		Control positivo
	Precaución		Control negativo
	Limitación de temperatura		Número de catálogo
	Fecha de caducidad		Válido para <n> ensayos
	Código de lote		Manténgase protegido de la luz del sol
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Número de identificación del paciente
	No utilizar si el envase está dañado		Manténgase seco
	Marca CE		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	RAEE: los equipos electrónicos marcados con este símbolo están sujetos a la Directiva 2012/19/UE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE) y no pueden eliminarse a través del sistema de residuos municipal.		

Trenton Biomedical Ltd.

(Edificio A) 35F, Nº 99, Sec. 1, Xintai 5th Rd., Xizhi Dist., Nueva Taipéi 22175, Taiwán (República de China) Tel.: +886-2-2697-2728
 Fax: +886-2-2697-1876
 Correo-e: service@credodxbiomed.com



MedNet GmbH
 Borkstraße 10, 48163
 Münster, Alemania

ver. 1.0