

COVFLU-NET

Combo SARS-CoV-2 + FLU A y B

(Nasofaríngea)
CCF 1225/02
REF DIAM-024

Uso deseado

La prueba rápida COVFLU-NET (Nasofaríngea) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de los antígenos correspondientes a los virus del SARS-CoV-2, así como Influenza A y B en muestras nasofaríngeas.

Resumen

Los virus respiratorios son altamente contagiosos ya que se transmiten fácilmente de persona a persona. Los síntomas van desde fiebre hasta la muerte, influyendo la condición de salud que el individuo posea o su edad [1].

Durante la pandemia por el virus SARS-CoV-2 han existido muchas variantes, con gran predominio de la variante denominada 'ómicron' [2], el linaje de esta variante ha ido mutando, por lo que, algunos síntomas han cambiado con respecto a los del inicio de la pandemia. Los síntomas más comunes son: fatiga, tos, dolor de cabeza, fiebre, congestión y secreción nasal, dolores musculares, ahogo o pérdida de olfato y gusto; en el último linaje descubierto (BQ.1) se ha reportado que causa diarrea, dolor de garganta, debilidad, pérdida del apetito, elevación del ritmo cardíaco y afonía [3]. Si bien, aun no hay datos suficientes para estimar el grado de mortandad de estos linajes, se sigue recomendado tomar las debidas precauciones para evitar la propagación y mutación del virus.

De las proteínas que forman la estructura del virus, la proteína N es detectable en pacientes sintomáticos, pre-sintomáticos y asintomáticos [3].

La influenza (comúnmente conocida como "gripe") es una infección viral altamente contagiosa de las vías respiratorias. Es una enfermedad transmitida fácilmente a través de tos y estornudos los cuales contienen partículas virales [4]. Los brotes de gripe ocurren cada año durante los meses de otoño e invierno. Los virus tipo A son más frecuentes que los virus de tipo B y están asociados con las epidemias de gripe más graves, mientras que las infecciones de tipo B suelen ser más leves. Entre los subtipos actuales de virus de influenza A que causan más problemas en la población son A (H1N1) y A (H3N2), siendo el primero la causa del problema nacional en la primavera de 2009. Actualmente la influenza A (H3N2) subclado K ha generado preocupación por su rápida propagación y parcial evasión de la inmunidad a vacunas previas. La prueba estándar para el diagnóstico de laboratorio es el cultivo de células durante 14 días en una variedad de líneas celulares que permiten el crecimiento del virus [5]. El cultivo de células ha limitado su utilidad clínica, ya que la obtención de los resultados es tardía y la intervención clínica se ve afectada. La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) es un método nuevo, generalmente más sensible que el cultivo con mejores tasas de detección de un 2-23% [6]. Sin embargo, la RT-PCR es costosa, compleja y debe realizarse en laboratorios especializados.

Principio

La prueba rápida COVFLU-NET para la detección cualitativa los antígenos correspondientes a los virus del SARS-CoV-2, así como Influenza A y B en muestras nasofaríngeas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consta de un cartucho, el cual está dividido en dos secciones:

Sección FLU A-B: Tira dividida en tres regiones: dos de prueba, una para el tipo de influenza: 'A' y 'B' que tiene impreso por separado un anticuerpo específico anti-influenza A en la línea de prueba A y otro anticuerpo específico anti-influenza B en la línea de prueba B y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por partículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos anti-influenza A y B.

La prueba es capaz de detectar la influenza A (H3N2) subclado K gracias a los anticuerpos anti-influenza A presentes en el dispositivo.

Sección COV-19: Tira dividida en dos regiones: una de prueba 'I' que tiene impreso anticuerpos anti-proteína N del SARS-CoV-2 y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La prueba también posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos anti-N.

Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de los antígenos correspondientes a los virus: SARS-CoV-2, Influenza A y B por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en las regiones A/B/T, esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de los antígenos correspondientes a los virus del SARS-CoV-2, así como Influenza A y B mayores al límite de detección se formará una línea de color en las regiones A/B/T, esto indica un resultado positivo. La prueba tiene un control 'región C', donde siempre debe de aparecer una línea de color, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La sección FLU contiene un conjugado de nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos anti-influenza A y B, anticuerpos de captura y anticuerpos anti-ratón.

La sección COV 19 contiene un conjugado de nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos anti-proteína N del SARS-CoV-2, anticuerpos de captura y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.
- Se recomienda no haberse lavado los dientes o ingerido alimentos o bebidas saborizadas, con colorantes artificiales o con alto valor calórico al menos 4 horas antes de la toma.
- Es posible que el agente detectado no sea la causa definitiva de la enfermedad.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrado:

- Prueba rápida en cartucho combo (FLU y COV)
- Hisopo
- Tubo de extracción con solución de corrimiento (Buffer)
- Instructivo de uso

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Contenedor de RPBI
- Pañuelos desechables

Recolección de muestra

- I. Empleando una toalla de papel retire el exceso de mucosa de la cavidad nasal, esto para eliminar la suciedad y evitar interferencias.
- II. Retire la envoltura protectora del hisopo nasofaríngeo. No manipule la cabeza del hisopo, tómelo del extremo del mango de plástico.
- III. Inserte el hisopo nasal en el orificio nasal con la vía más despejada.
- IV. Rote el hisopo de forma gentil e introdúzcalo hasta que produzca una resistencia al avance, esto sucede a la altura de la cavidad faríngea superior (aproximadamente 2.5 cm después de la entrada del orificio nasal).
- V. Rote el hisopo 5 veces o más contra la pared nasal.
- VI. Retire lentamente el hisopo del orificio nasal.
- VII. Usando el mismo hisopo, repita el procedimiento en el orificio nasal restante.

Almacenamiento de la muestra

- Para un mejor desempeño, analice las muestras inmediatamente de su recolección, una manipulación, almacenamiento o transporte incorrecto puede generar desviaciones en los resultados.
- Si por alguna razón no puede analizar la muestra inmediatamente, almacene el hisopo en un tubo de extracción, sellado adecuadamente. La muestra puede permanecer así hasta por 1 hora previo al análisis a temperatura ambiente. Si se excede este tiempo, la muestra dejará de ser viable y se deberá realizar una nueva toma de muestra.

Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y solución de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Prepare una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

Preparación de materiales:

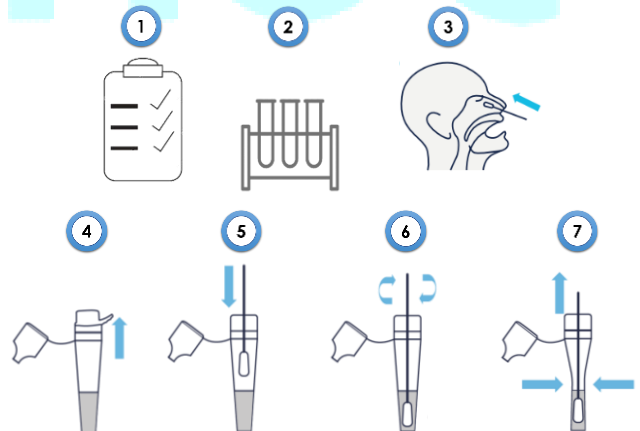
1. Reconozca cada uno de los materiales y asegúrese que cuenta con todo lo necesario.
2. Coloque el tubo de extracción en una gradilla de apoyo.

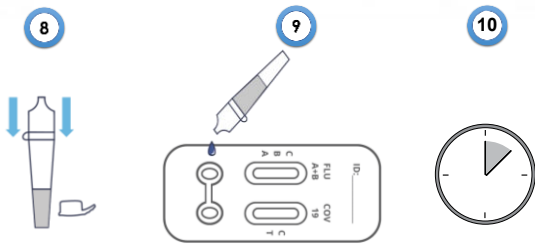
Recolección de la muestra:

3. Obtenga la muestra cómo se indicó en la sección de 'Recolección de muestra'.

Procesamiento de la muestra:

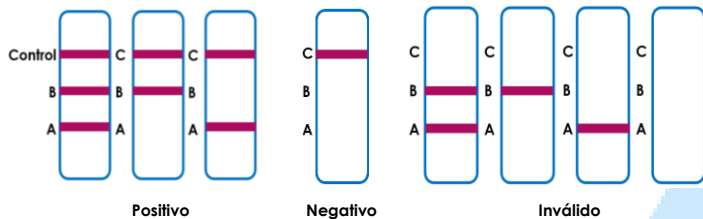
4. Retire la tapa blanca del tubo de extracción
5. Introduzca el hisopo en el tubo de extracción.
6. Humedezca todo el hisopo en la solución buffer. Incorpore la muestra con el buffer con ayuda del hisopo, realizando movimientos rotatorios por 10 segundos.
7. Presione el tubo para exprimir en lo posible el material que permanezca en el hisopo. Retire el hisopo del tubo y deséchelo.
8. Tape el tubo de extracción con la tapa en forma de gotero que cuelga de él. Presione fuertemente para evitar derrames.
9. Saque la prueba de su empaque y agregue 3 gotas de la preparación a cada pozo de muestra del cartucho. Procure no mover o manipular las pruebas después de agregar la muestra. Nota: Si después de 2 minutos no se observa migración agregue 1 gota más de la preparación en la zona de muestra (S) del cartucho.
10. Interprete los resultados a los 15 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.





Interpretación de resultados

Sección INFLUENZA A y B



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO INFLUENZA A y B: Tres líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región control (C), otra en la región A y una última en la región B. Este resultado positivo indica que se detectó el antígeno de Influenza A y antígeno de Influenza B en la muestra.

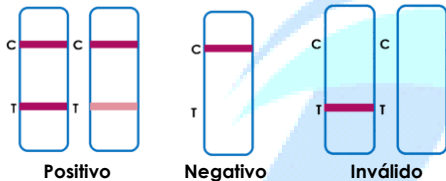
POSITIVO INFLUENZA B: Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región control (C) y otra línea de color en la región de Influenza B (B). Un resultado positivo en la región A indica que se detectó el antígeno de la Influenza tipo B en la muestra.

POSITIVO INFLUENZA A: Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región control (C) y otra línea de color en la región de Influenza A (A). Un resultado positivo en la región A indica que se detectó el antígeno de la Influenza tipo A en la muestra.

Una muestra positiva a Influenza A (H3N2) subclado K se observa como positivo a Influenza A.

NEGATIVO: Una línea de color aparece en la región de control (C). Ninguna línea aparece en la región A o B.

Sección COV (SARS-CoV-2)



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO SARS-CoV-2: Aparece una línea de color en la región control (C) y otra línea de color en la región de prueba (T). Nota: La intensidad del color de la línea en la región de prueba (T) puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO SARS-CoV-2: Aparece una línea de color en la región control (C). No aparece ninguna línea de color en la región de prueba (T).

INVÁLIDO: La línea de color en la región control (C) no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, estas suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región control (C) confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, pero se sugiere su uso como buena práctica de laboratorio.

Limitaciones

- Los resultados deben ser interpretados por un médico o personal calificado.
- La prueba rápida COVFLU-NET es solo para uso profesional *in vitro*. Es una prueba cualitativa y no puede determinar el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de los virus.
- Esta prueba ha sido evaluada para la detección de los virus: SARS-CoV-2 e Influenza A y B, por lo tanto, solo debe ser usada para su detección y no para otros tipos de virus o patógenos.
- La prueba rápida COVFLU-NET sólo indica la presencia de los antígenos correspondientes a los virus SARS-CoV-2 e Influenza A y B en la muestra y no debe usarse como único criterio para el diagnóstico o exclusión de la infección por estos patógenos o para informar el estado de la infección.
- La prueba rápida COVFLU-NET debe ser utilizada para fines de investigación.
- Como con todas las pruebas de tamizaje, los resultados deben considerarse con toda información clínica disponible para el médico o personal calificado.
- Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos como las pruebas de diagnóstico molecular y los resultados deben ser interpretados por un médico.
- La tonalidad que adquiere la membrana no interfiere en el resultado. Mientras la línea control se visualice, el resultado es válido.
- Los resultados negativos no descartan la infección por SARS-CoV-2 e Influenza A y B, ya que la mayor sensibilidad esperada es entre los 2 hasta los 7 días a partir del inicio de los síntomas. De acuerdo con las cargas virales antes o después de este periodo (de 2 a 7 días) se recomienda utilizar técnicas más sensibles para la detección.
- Particularmente en aquellos pacientes que han estado en contacto con personas positivas a alguno de estos virus. Las pruebas de diagnóstico molecular deben usarse para descartar la infección en estos individuos.

- La prueba puede ser positiva aún después de recuperado el individuo infectado.
- La prueba no está autorizada para vigilancia epidemiológica.
- El desempeño de la prueba se ha evaluado bajo las condiciones y características mencionadas en este manual. Se recomienda seguir las instrucciones para asegurar la precisión de los resultados.
- Los períodos de incubación del virus pueden diferir según el estado de vacunación, las condiciones de salud subyacentes, el historial de infecciones, la edad y la carga viral que enfrentan los individuos.

Características de desempeño

La prueba rápida COVFLU-NET se evaluó con muestras nasofaríngeas. Todos los resultados fueron comparados contra qRT-PCR. A continuación, se reportan los resultados por virus:

Influenza A y B

Se usaron los resultados obtenidos de 285 pacientes que presentaron evolución de sintomatología de 2 a 7 días, con presencia de dos o más de los siguientes datos clínicos: fiebre mayor o igual a 38 °C, cefalea, fatiga, rinorrea, tos, disnea a bajos y medianos esfuerzos, saturación de oxígeno <90%, diarrea, anosmia.

Las muestras obtenidas fueron recolectadas de hisopado nasofaríngeo y analizadas con la prueba rápida COVFLU-NET, así como con una prueba de referencia qRT-PCR.

Método	Resultado	qRT-PCR		Resultados totales
		Positivo	Negativo	
	Positivo	109	1	110
Prueba rápida COVFLU-NET	Negativo	1	174	175
	Resultados totales	110	175	285

Sensibilidad Relativa: 99.09% (95% CI: 97.16% - 99.71%)

Especificidad Relativa: 99.43% (95% CI: 97.68% - 99.86%)

Precisión Global: 99.30% (95% CI: 97.48% - 99.81%)

*Intervalo de confianza

Influenza B

Método	Resultado	qRT-PCR		Resultados totales
		Positivo	Negativo	
	Positivo	87	1	88
Prueba rápida COVFLU-NET	Negativo	2	195	197
	Resultados totales	89	196	285

Sensibilidad Relativa: 97.75% (95% CI: 95.29% - 98.94%)

Especificidad Relativa: 99.49% (95% CI: 97.78% - 99.88%)

Precisión Global: 98.95% (95% CI: 96.95% - 99.64%)

*Intervalo de confianza

SARS-CoV-2

Se usaron los resultados obtenidos de 304 pacientes que presentaron evolución de sintomatología de 2 a 7 días, con presencia de dos o más de los siguientes datos clínicos: fiebre mayor o igual a 38 °C, cefalea, fatiga, rinorrea, tos, disnea a bajos y medianos esfuerzos, saturación de oxígeno <90%, diarrea, anosmia.

Las muestras obtenidas fueron recolectadas de hisopado nasofaríngeo y analizadas con la prueba rápida COVFLU-NET, así como con la prueba de referencia qRT-PCR.

Método	Resultado	qRT-PCR		Resultados totales
		Positivo	Negativo	
	Positivo	142	1	143
Prueba rápida COVFLU-NET AMUNET	Negativo	2	159	161
	Resultados totales	144	160	304

Sensibilidad Relativa: 98.61% (IC*: 95.09% - 99.38%)

Especificidad Relativa: 99.38% (IC*: 96.18% - 99.77%)

Precisión Global: 99.01% (IC*: 95.65% - 99.60%)

*Intervalo de confianza

Referencias

- OPS (Organización Panamericana de la Salud). Influenza y otros virus respiratorios.
- COVID19.CA.GOV. (2023). Variantes. Link: Variantes - Coronavirus COVID-19 Response (ca.gov).
- Karyakarte, R., Das, R., Dudhate, S., Agarasen, J., Pillai, P., Chandankhede, P., ... & Karmodiya, K. (2023). Clinical Characteristics and Outcomes of Laboratory-Confirmed SARS-CoV-2 Cases Infected with Omicron subvariants and XBB recombinant variant. medRxiv.
- Williams, KM, Jackson MA, Hamilton M. (2002) Pruebas de diagnóstico rápido para infecciones del tracto respiratorio superior en niños: Impacto en la toma de decisiones y el costo del médico. *infect. Medicina*. 19(3): 109-111.
- Belts, RF 1995. Virus de la gripe, pág. 1546-1567. En G. L. Mandell, R. G. Douglas, Jr. y J.E. Bennett (ed.), Principio y práctica de las enfermedades infecciosas, 4.ª ed. Churchill Livingstone, Inc., Nueva York, N.Y.
- Recomendaciones de la OMS sobre el uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de influenza, Organización Mundial de la Salud, julio de 2005.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar
	Uso para investigación		