

Prueba rápida en cartucho COVINET Ag-Saliva

(saliva)
AgCO/S 0724/02
REF DIAM-025

Uso deseado

La prueba rápida para detección de antígeno COVINET Ag-Saliva es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de partículas virales correspondientes a la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2 en muestras de saliva orofaríngea.

U11

Resumen

El diagnóstico oportuno de los individuos infectados por el virus SARS-CoV-2 toma un rol muy importante en la prevención de diseminación de casos y riesgo de muerte en personas no vacunadas, debido a la dinámica viral [1]. La enfermedad por Covid-19 suele cursar con fiebre, tos, dolor de garganta, dificultad respiratoria, fatiga, malestar general, insuficiencia multiorgánica, pérdida del olfato y pérdida del gusto, aunque algunos casos son asintomáticos [2]. De las proteínas que forman la estructura del virus, la proteína N es detectable en pacientes sintomáticos, pre-sintomáticos y asintomáticos, aunque con diferencia en concentraciones lo que está ligado a la gravedad de la enfermedad [3,4]. Los estudios han demostrado que el COVID-19 puede transmitirse de persona a persona a través del contacto directo o indirecto, mediante gotas gruesas o pequeñas de secreciones provenientes del tracto respiratorio [2]. La saliva secretada por las glándulas salivales contiene agua, células epiteliales, electrolitos, mucosa, microorganismos, así como proteínas digestivas y protectoras [2,4], esta representa una fuente de biofluido atractiva para la detección de SARS-CoV-2, debido a que su obtención no es invasiva, es rápida, y de bajo costo [1,2,3,4]. Gracias a la accesibilidad de la muestra y a que es fácilmente aplicable a todos los grupos sociales de la población, como los niños. [4]. El uso de las pruebas rápidas es factible si se tiene en cuenta la dinámica viral de las diferentes variantes y la localización preponderante del virus en el avance de la infección [5].

Principio

La prueba rápida en cartucho COVINET Ag-saliva es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo basado en la detección de partículas virales correspondientes a la proteína N del SARS-CoV-2 por el reconocimiento de éstas con anticuerpos específicos anti-proteína N (anti-N). La prueba consta de dos líneas, una línea control (C) que indica la validez del inmunoensayo y una línea de prueba (T) en la cual se encuentran impresos los anticuerpos anti-N. Si la muestra contiene una carga viral detectable reaccionará con las partículas recubiertas de anticuerpos anti-N presentes en la prueba, continuará migrando cromatográficamente a través de la membrana y reaccionará con los anticuerpos anti-N impresos en la región de línea de prueba (T). Como resultado, aparecerá una línea de color considerándolo como un RESULTADO POSITIVO. En el caso de que las muestras no contengan partículas virales de SARS-CoV-2 solo se visualizará la línea control (C) y se indicará como un RESULTADO NEGATIVO. Para servir como control de procedimiento siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control (C), lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y se ha producido la migración en la membrana.

Reactivos

La prueba contiene anticuerpos anti-N del SARS-CoV-2 como reactivos de captura y partículas recubiertas con anti-N del SARS-CoV-2 como detección. Un anticuerpo anti-ratón se emplea en el sistema de línea control.

Precauciones

- Solo para uso profesional *in vitro*.
- No utilice después de la fecha de caducidad.
- No mezcle componentes de diferentes lotes.
- Siempre analice la muestra inmediatamente después de ser tomada.
- El almacenamiento, transporte o colecta de muestras realizados de forma inadecuada, puede generar resultados erróneos.
- No comer, beber o fumar en el área donde se manejan las muestras o las pruebas.
- No utilice la prueba si el paquete está dañado.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra riesgos microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se analicen.
- Asegúrese de utilizar una cantidad adecuada de muestra para la prueba. Demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
- Es normal que muestras densas tarden más en migrar.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las normativas locales para el manejo de residuos peligrosos biológicos-infecciosos.
- La temperatura y humedad pueden afectar negativamente los resultados.
- Se recomienda no haberse lavado los dientes o ingerido alimentos o bebidas azucaradas, 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

- Almacene la prueba en la bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No congele el contenido de la prueba.
- Mantenga el buffer de corrimiento en un lugar fresco y seco.

Almacenamiento de la muestra

- Una vez colectada la muestra, devuelva el hisopo a su envoltura original y deséchelo según la normativa.
- 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 colector de muestra, 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.

Materiales

Materiales proporcionados:

- Prueba rápida en cartucho de COVINET Ag-Saliva
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Hisopo para toma de muestra de saliva
- Tubo colector
- Tapa cuentagotas
- Instructivo de uso

Materiales requeridos, pero no proporcionados:

- Temporizador
- Contenedor de RPBI
- Pañuelos desechables

Instrucciones de uso

Permitir que la prueba y buffer estén a temperatura ambiente (18-30 °C) antes de su uso.

Preparación de materiales:

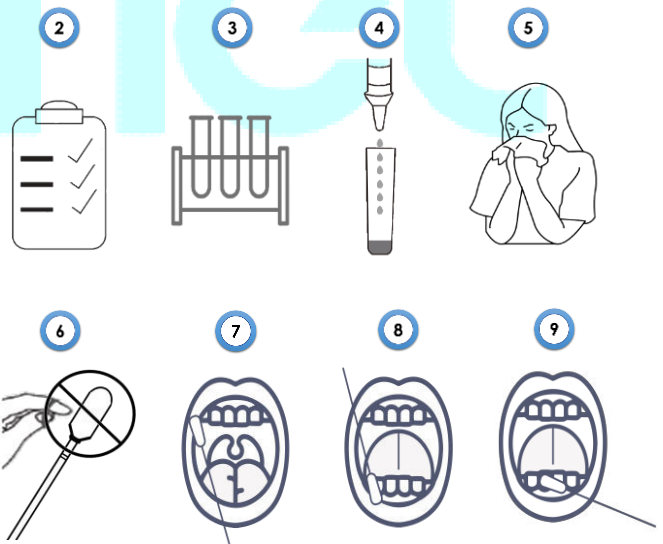
1. Prepare una superficie limpia y nivelada para realizar el procedimiento.
2. Reconozca cada uno de los materiales y asegúrese que cuenta con todo lo necesario.
3. Coloque el tubo colector en una gradilla de apoyo.
4. Agregue 10 gotas de buffer al tubo colector. Si la muestra es muy densa, se recomienda colocar 13 gotas de buffer para mejorar la homogenización.

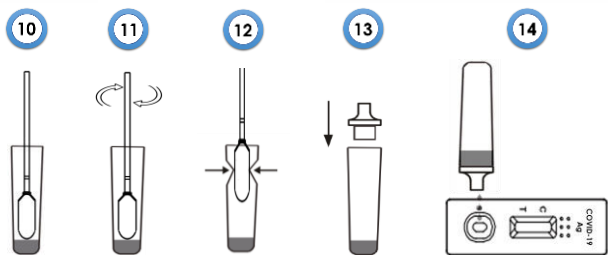
Recolección de la muestra:

5. Tosa con fuerza, colocando un paño que cubra nariz y boca. Sin abrir la boca, almacene lo máximo posible la saliva generada.
6. Retire la envoltura protectora del hisopo. No manipule la cabeza del hisopo, tómelo del extremo del mango de plástico.
7. Abra la boca, introduzca el hisopo, frote 10 veces contra la mejilla derecha, repita en la mejilla izquierda.
8. Coloque el hisopo por 10 segundos en el surco inferior derecho cerca de las glándulas salivales mayores a un lado de los dientes, donde se concentra más saliva. Repita en el surco del lado de la mejilla izquierda con el mismo hisopo.
9. Levante la lengua, recoja la mayor cantidad de saliva del piso sublingual.

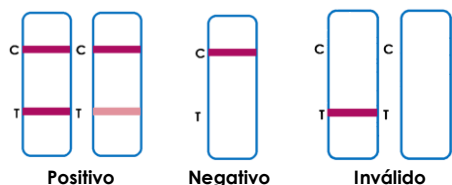
Procesamiento de la muestra:

10. Introduzca el hisopo en el tubo colector previamente preparado. Humedezca todo el hisopo en la solución buffer.
11. Incorpore la muestra con el buffer con ayuda del hisopo, realizando movimientos rotatorios.
12. Presione el tubo colector para exprimir en lo posible el material que permanezca en el hisopo. Retire el hisopo del tubo y deséchelo.
13. Tape el tubo colector con la tapa cuentagotas. Presione fuertemente para ajustar el gotero y evitar fugas de material.
14. Saque la prueba de su empaque y agregue 3 gotas de la preparación en la zona de muestra (S) del cartucho. Procure no mover o manipular la prueba después de agregar la muestra. Si después de 2 minutos no se observa migración agregue 1 gota de buffer en la zona de muestra (S) del cartucho.
15. Interprete los resultados a los 15 minutos. No leer después de 20 minutos.





Interpretación de resultados



(Refiera a la imagen de arriba)

-SARS-CoV-2 POSITIVO: Dos líneas distintas de color aparecen. Una línea coloreada debe estar en la región de control (C) y otra línea coloreada debe estar en la región de prueba (T). Un resultado positivo indica que se detectó la cápside del virus SARS-CoV-2.

NOTA: La intensidad del color en la región de prueba (T) varía en función de la cantidad de proteína viral presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tonalidad de color en la región de prueba debe considerarse como un resultado positivo.

-SARS-CoV-2 NEGATIVO: Una línea de color aparece en la región de control (C). Ninguna línea aparece en la región de la línea de prueba (T).

-INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Cantidad de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo cartucho de prueba. Si el problema persiste suspenda el uso de la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

Control de calidad

Un control interno está incluido en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es el control interno del procedimiento. Confirma que hubo suficiente cantidad de muestra y el procedimiento fue correcto. Los controles no se suministran con la prueba, sin embargo, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio.

Limitaciones

USO EXCLUSIVO EN INVESTIGACIÓN

- Los resultados deben ser interpretados por un médico o personal calificado.
- La prueba rápida en cartucho de COVINET Ag-Saliva es solo para uso profesional *in vitro*. Esta prueba cualitativa no puede determinar el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos del virus SARS-CoV-2.
- Esta prueba ha sido evaluada para la detección del virus SARS-CoV-2 y solo debe ser usada para su detección y no para otros tipos de virus o patógenos.
- La prueba rápida en cartucho de COVINET Ag-Saliva sólo indica la presencia de antígenos correspondientes al SARS-CoV-2 en la muestra y no debe usarse como único criterio para el diagnóstico o exclusión de la infección por SARS-CoV-2 o para informar el estado de la infección.
- La prueba rápida en cartucho de COVINET Ag-Saliva 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, 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 el virus. Las pruebas de diagnóstico molecular deben usarse para descartar la infección en estos individuos.
- Las pruebas pueden ser positivas aún después de recuperado el individuo infectado.
- Las pruebas no están autorizadas 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.
- La presencia del virus en muestras de saliva puede estar influenciada por el periodo de tiempo en la que fue recolectada y la relación epidemiológica con casos positivos a COVID-19. Su presencia en la cavidad orofaríngea debe ser confirmada con otros métodos más sensibles.

- Los periodos 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. Debido a la reducción del periodo de incubación de la variante ómicron del virus SARS-CoV-2 (5 días), se recomienda tomar dos pruebas rápidas en fechas separadas (una a partir del desarrollo de los síntomas y otra de los 3 a 5 días) para aumentar la precisión de la detección.

Características de presentación

La prueba rápida en cartucho de COVINET Ag-Saliva se analizó usando resultados obtenidos de 104 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 de muestra de saliva para la prueba COVINET Ag-Saliva y la prueba de referencia RT-PCR en muestras nasofaríngeas.

Método	RT-PCR		Resultados totales	
	Resultado	Positivo		Negativo
	Prueba rápida para la detección cualitativa del antígeno del virus SARS-CoV-2 en muestras de saliva	Positivo		44
	Negativo	1	57	58
Resultados totales		45	59	104

Sensibilidad Relativa: 97.78% (IC*: 92.81% - 99.34%)
 Especificidad Relativa: 96.61% (IC*: 91.15% - 98.75%)
 Precisión Global: 97.12% (IC*: 91.86% - 99.01%)
 *Intervalo de confianza

Reactividad cruzada

La prueba rápida en cartucho de COVINET Ag-Saliva se ha probado con muestras positivas para el siguiente panel. Los resultados no mostraron reacción cruzada.

Influenza A H1N1 (A/ NewCaledonia/20/99)	Adenovirus tipo 3
Influenza A H3 (A/Brisbane/10/07)	Coronavirus NL63
Influenza A 2009 H1N1pdm (A/NY/02/09)	Coronavirus 229E
Influenza B (B/Florida/02/06)	Coronavirus OC43
Metapneumovirus 8 (Peru6-2003)	Coronavirus HKU-1
Virus sincitial respiratorio A	<i>M. pneumoniae</i> (M129)
Rhinovirus 1 ^a	<i>C. pneumoniae</i> (CWL-029)
Virus Parainfluenza tipo 1	<i>B. pertussis</i> (A639)
Virus Parainfluenza tipo 2	Adenovirus tipo 31
Virus Parainfluenza tipo 3	Adenovirus tipo 1
Virus Parainfluenza tipo 4	<i>B. parapertussis</i> (A747)

Sustancias interferentes

Los siguientes compuestos han sido probados usando la prueba rápida de COVINET Ag-Saliva en muestra de saliva sin observarse interferencia.

Sangre	(1%)	Fluconazol	(5%)
Cloruro de sodio	(5%)	Oseltamivir	(0.5%)
Oximetazolina	(15%)	Tobramicina	(0.0004%)

Referencias

- Kissler, S. M., Fauver, J. R., Mack, C., Tai, C. G., Breban, M. I., Watkins, A. E., Grad, Y. H. (2021). Viral Dynamics of SARS-CoV-2 Variants in Vaccinated and Unvaccinated Persons. *New England Journal of Medicine*. December 2021, 385(26), 2489-2491. doi: 10.1056/NEJMc2102507
- Han P, Ivanovski S. Saliva—Friend and Foe in the COVID-19 Outbreak. *Diagnostics*. 2020; 10(5):290. https://doi.org/10.3390/diagnostics10050290
- Shan, D., Johnson, J.M., Fernandes, S.C. et al. N-protein presents early in blood, dried blood and saliva during asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun* 12, 1931 (2021). https://doi.org/10.1038/s41467-021-22072-9
- Ceron JJ, Lamy E, Martinez-Subiela S, Lopez-Jornet P, Capela-Silva F, Eckersall PD, Tvarijonavičiute A. Use of Saliva for Diagnosis and Monitoring the SARS-CoV-2: A General Perspective. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9(5):1491. https://doi.org/10.3390/jcm9051491
- Marais, G., Hsiao, N.-y., Iranzadeh, A., Doolabh, D., Enoch, A., Chu, C.-y., Hardie, D. (2021). Saliva swabs are the preferred sample for Omicron detection. *medRxiv*, 2021.2012.2022.21268246. doi: 10.1101/2021.12.22.21268246

Índice de símbolos

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

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
	No reutilizar