

COVFLU-NET

Combo SARS-CoV-2 + FLU A y B

(Nasofaríngea)
CCF 0426/01
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 de SARS-CoV-2 e influenza A y B en muestras nasofaríngeas.

Resumen

Los virus respiratorios son altamente contagiosos y se transmiten fácilmente de persona a persona mediante secreciones respiratorias. Pueden ocasionar un espectro clínico que va desde síntomas leves hasta cuadros graves o incluso la muerte, dependiendo de factores como la edad y el estado de salud del individuo [1].

Durante la pandemia por SARS-CoV-2 han surgido múltiples variantes, destacando ómicron y sus sublinajes, los cuales han mostrado cambios en la presentación clínica. Los síntomas más frecuentes incluyen fatiga, tos, cefalea, fiebre, congestión nasal y mialgias, mientras que linajes recientes como BQ.1 pueden asociarse también con diarrea, dolor de garganta, debilidad, pérdida del apetito y afonía [2]. A nivel estructural, la proteína N del virus constituye un blanco diagnóstico relevante, ya que es detectable en pacientes sintomáticos, pre-sintomáticos y asintomáticos [3].

Por su parte, la influenza es una infección viral respiratoria altamente contagiosa que presenta brotes estacionales, principalmente en otoño e invierno. Los virus tipo A son los más frecuentes y se asocian con epidemias más graves en comparación con los de tipo B. Entre los subtipos de mayor relevancia se encuentran A(H1N1) y A(H3N2) [4].

El cultivo celular ha sido considerado un método de referencia para diagnóstico de estos virus, sin embargo, su utilidad clínica es limitada debido al tiempo prolongado requerido para obtener resultados. Otro método es la RT-PCR, la cual es más rápida pero requiere infraestructura especializada y representa mayores costos [5]. En contraste, las pruebas rápidas permiten un mejor manejo clínico del paciente, adoptar medidas de salud pública y controlar posibles brotes en menor tiempo y costo [6].

Principio

La prueba rápida COVFLU-NET (nasofaríngea) para detección cualitativa de los antígenos de SARS-CoV-2 e influenza A y B en muestras nasofaríngeas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba contiene dos membranas independientes, cada una correspondiente a una sección del cartucho, siendo FLU A+B para influenza A y B y COV 19 para SARS-CoV-2. Asimismo, cada membrana se encuentra dividida en regiones de prueba y control, la primera (FLU A+B): una de prueba 'A' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-influenza A, una segunda región de prueba 'B' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-influenza B y una tercera región control 'C' que tiene impresos anticuerpos anti-ratón. La segunda membrana (COV 19): una de prueba 'T' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-SARS-CoV-2 y una segunda región control 'C' que tiene impresos anticuerpos anti-ratón.

La prueba posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas por anticuerpos de detección anti-influenza A, anti-influenza B o anti-SARS-CoV-2 según corresponda. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' de cada sección del cartucho junto con la solución de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o presenta concentraciones de antígenos de Influenza A, Influenza B o SARS-CoV-2 por debajo del límite de detección, no se formará el complejo antígeno-anticuerpo, evitando la aparición de una línea de color en la región 'A', 'B' o 'T', lo que indica un resultado negativo para ese análisis. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de alguno de los antígenos virales por encima del límite de detección, se formará el complejo antígeno-anticuerpo, dando lugar a la aparición de una línea de color en la región 'A', 'B' o 'T' según la sección (FLU A+B o COV 19), lo que indica un resultado positivo para ese análisis. La validez de la prueba se confirma por la aparición de una línea de color en la región 'C'. Esta línea corresponde al control interno del procedimiento e indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y que la prueba se ejecutó correctamente.

Reactivos

La prueba contiene dos membranas cada una con un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos de detección anti-influenza A, anti-influenza B o anti-SARS-CoV-2 (según corresponda), anticuerpos de captura anti-influenza A, anti-influenza B o anti-SARS-CoV-2 y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

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

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- No utilizar la prueba si su empaque está dañado.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- 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 recolección de muestra.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

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

Materiales

Suministrados:

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

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Gradilla
- Contenedor RPBI
- Pañuelos desechables

Opcionales:

- Contenedor para muestra

Recolección de muestra

- I. Empleando un pañuelo 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 el cabezal del hisopo, tómelolo del extremo del mango de plástico.
- III. Identifique el orificio nasal con la vía más despejada.
- IV. Ingrese el hisopo de forma gentil hasta que se produzca una resistencia al avance, esto sucede a la altura de la cavidad nasofaríngea superior aproximadamente 2.5 cm después de la entrada del orificio nasal (ver imagen 1).
- 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.



Imagen 1. Ubicación de hisopo

Almacenamiento y estabilidad de la muestra

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

Instrucciones de uso

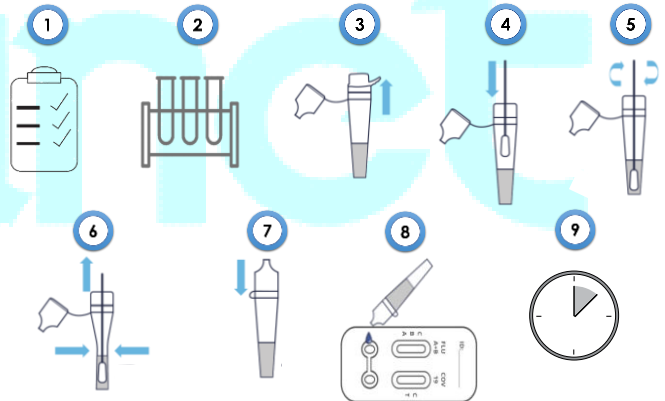
Permita que la prueba, la muestra y el buffer alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Prepare una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

Preparación de materiales:

1. Asegúrese de contar con todo lo necesario (materiales y muestra).
2. Coloque un tubo de extracción en una gradilla de apoyo.

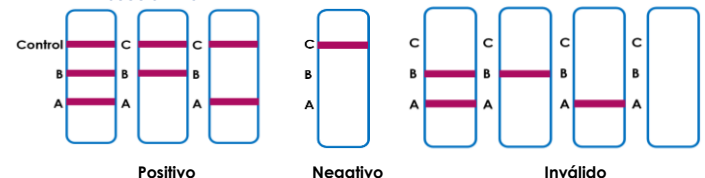
Procesamiento de la muestra:

3. Retire la tapa blanca del tubo de extracción.
4. Introduzca el hisopo con la muestra (previamente recolectada) en el tubo de extracción.
5. Humedezca todo el hisopo en la solución buffer. Incorpore la muestra al buffer por medio de movimientos rotatorios por 10 segundos.
6. Levante el hisopo de la solución de corrimiento y apriete las paredes del tubo colector contra el hisopo para obtener la mayor cantidad de muestra, al finalizar deseche el hisopo.
7. Tape el tubo de extracción con la tapa en forma de gotero que cuelga de él. Presione fuertemente para evitar derrames.
8. Saque la prueba de su empaque y deposite 3 gotas de la preparación en los dos pozos 'S' del cartucho. Procure no mover o manipular la prueba después de agregar la muestra. Nota: Si después de 2 minutos no se observa migración agregue 1 gota más a cada pozo 'S' del cartucho.
9. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 15 minutos. No interprete el resultado después de los 20 minutos.



Interpretación de resultados

Sección FLU A+B



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO INFLUENZA A y B: Tres líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región 'A' y una segunda en la región 'B' y una última en la región 'C'. Este resultado positivo indica que se detectó el antígeno de Influenza A y antígeno de Influenza B en la muestra. Nota: La intensidad del color de las líneas en las regiones 'A' y 'B' puede variar, por lo que cualquier tono de color en dichas regiones debe considerarse positivo.

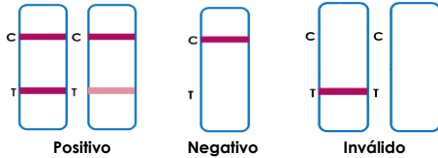
POSITIVO INFLUENZA B: Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región 'B' y otra línea de color en la región 'C'. Un resultado positivo en dicha región indica que se detectó el antígeno de la Influenza tipo B en la muestra.

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

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

INVÁLIDO: La línea de la región 'C' no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, 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 la prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Sección COV 19



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO SARS-CoV-2: Aparece una línea de color en la región 'C' y otra línea de color en la región 'T'. Nota: La intensidad del color de la línea en la región '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 'C'. No aparece ninguna línea de color en la región 'T'.

INVÁLIDO: La línea de la región 'C' no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, 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 la prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

La prueba incluye un control interno del procedimiento. Una línea de color aparece en la región '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, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

- Usos Profesionales e Interpretación:
 - Esta prueba es exclusivamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
 - Los resultados deben ser interpretados por personal calificado y no deben utilizarse como único criterio para el diagnóstico de la influenza A, influenza B o SARS-CoV-2.
 - El resultado obtenido debe considerarse en conjunto con toda la información clínica, sintomatología y antecedentes del paciente.
 - El resultado de esta prueba corresponde únicamente al análisis detectado y no indica ni descarta la presencia de otros patógenos.
- Alcance del Resultado (Cualitativo):
 - Esta es una prueba cualitativa; no proporciona el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos de influenza A, influenza B o SARS-CoV-2.
 - La prueba detecta la presencia del analito en muestras nasofaríngeas. El rendimiento depende directamente de la concentración de analito presente en la muestra.
- Resultados Negativos y Seguimiento:
 - Un resultado negativo no descarta infección por influenza A, influenza B o SARS-CoV-2. Esto puede ocurrir si:
 - I. La concentración del analito es inferior al límite de detección del ensayo.
 - II. La muestra fue recolectada fuera del período óptimo de detección (ventana inmunológica).
 - Si la sintomatología persiste, se recomienda realizar pruebas adicionales mediante métodos confirmatorios.
 - 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 período (de 2 a 7 días) se recomienda utilizar técnicas más sensibles para la detección.
- Factores Técnicos:
 - Muestras:
 1. El exceso de sangre o moco en la muestra puede interferir con el desempeño de la prueba y puede arrojar un resultado falso negativo.
 2. Es normal que muestras viscosas tarden más en migrar.
 3. Demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
 - Productos: El uso de aerosoles nasales de venta libre y/o recetados en altas concentraciones puede interferir con los resultados, arrojando resultados inválidos o incorrectos.
 - Validación: El desempeño de la prueba solo está garantizado bajo las condiciones e instrucciones mencionadas en este instructivo.
- Observaciones Específicas (Particularidades):
 - 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.
 - 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.

Valores esperados

La prueba rápida COVFLU-NET para detección cualitativa de los antígenos de SARS-CoV-2 e influenza A y B en muestras nasofaríngeas fue comparada con una prueba comercial de qRT-PCR utilizando muestras clínicas, se obtuvo una precisión de más del 98%.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba para evaluar muestras nasofaríngeas provenientes de pacientes enfermos y relativamente sanos. Todos los resultados fueron confirmados por medio de una prueba de qRT-PCR, a continuación, se presentan los resultados de la comparación de ambos métodos:

Influenza A y B

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

Sensibilidad: 99.09% (95% IC: 97.16% - 99.71%)

Especificidad: 99.43% (95% IC: 97.68% - 99.86%)

Precisión: 99.30% (95% IC: 97.48% - 99.81%) IC: Intervalo de confianza

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

Sensibilidad: 97.75% (95% IC: 95.29% - 98.94%)

Especificidad: 99.49% (95% IC: 97.78% - 99.88%)

Precisión: 98.95% (95% IC: 96.95% - 99.64%) IC: Intervalo de confianza

SARS-CoV-2

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

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

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

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

IC: Intervalo de confianza

Referencias

- Jain, S., & Williams, D. J. (2020). Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. adults. *New England Journal of Medicine*, 373(5), 415–427.
- World Health Organization. (2022). *Enhancing response to Omicron SARS-CoV-2 variant: Technical brief and priority actions for Member States*. WHO.
- Dinnes, J., et al. (2021). Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3), CD013705.
- Uyeki, T. M., et al. (2019). Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America: 2018 update on diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management of seasonal influenza. *Clinical Infectious Diseases*, 68(6), e1–e47.
- Chauhan, N., et al. (2021). A changing trend in diagnostic methods of Influenza A (H3N2) virus in human: A review. *3 Biotech*, 11, 38.
- Marimón, J. M., & Navarro-Marí, J. M. (2017). Métodos de diagnóstico rápido de las infecciones respiratorias [Rapid diagnostic test for respiratory infections]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 35(2), 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.11.007>

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