

COVFLU-NET

Combo SARS-CoV-2 + FLU A y B

(Nasofaríngea)
CCF 0923/01
REF DIAM-024

Uso deseado

La prueba rápida COVFLU-NET 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. 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 es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo basado en la detección de partículas virales correspondientes a los virus del SARS-CoV-2, así como Influenza A y B. La prueba consta de dos cartuchos, cada uno reconoce a un virus en específico.

El cartucho de FLU A y B, cuenta con tres líneas en las que se imprimen 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. En esta prueba Durante el ensayo, la muestra reacciona con el anticuerpo anti-influenza A o anti-influenza B que se encuentran recubriendo las partículas de oro. La mezcla migra por capilaridad a través de la tira reactiva para reaccionar con el anticuerpo del tipo A y/o del tipo B de la membrana y genera una o dos líneas de color en las zonas de prueba. La presencia de una línea de color en una o en ambas zonas de prueba indica un RESULTADO POSITIVO, su ausencia y la visualización solo de la línea control (C) indicará un RESULTADO NEGATIVO.

La tira COV 19, cuenta con 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-proteína N del SARS-CoV-2. 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 en todas las tiras 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 tira de FLU A y B contiene partículas de oro recubiertas con anticuerpos anti-influenza A y B, así como anticuerpos anti-influenza A y B impresos en la membrana.

La tira COV 19 contiene anticuerpos anti-N del SARS-CoV-2 como reactivos de captura y partículas recubiertas con anti-N del SARS-CoV-2 como detección.

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 resultados.
- Es normal que muestras viscosas 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 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 la bolsa sellada a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°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

- 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.

Materiales

Materiales proporcionados:

- Prueba rápida en cartucho FLU A y B (Influenza)
- Prueba rápida en cartucho COVID-19 Ag (SARS-CoV-2)
- Hisopo
- Tubo de extracción con buffer
- Manual de instrucciones

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. Prepare una superficie limpia y nivelada para realizar el procedimiento.

Preparación de materiales:

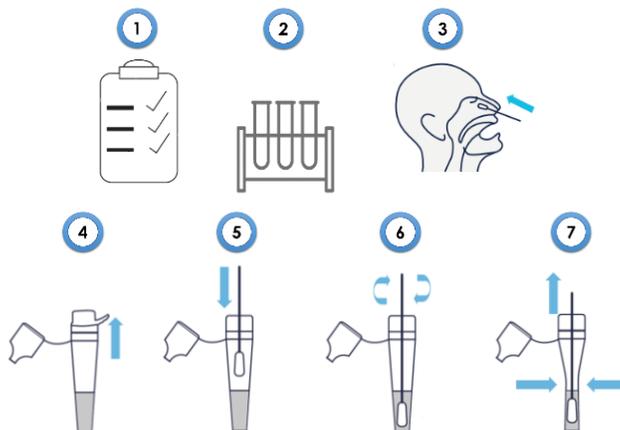
1. Reconozca cada uno de los materiales y asegúrese que cuenta con todo lo necesario.
2. Coloque el tubo de extracción en una gradilla de apoyo.

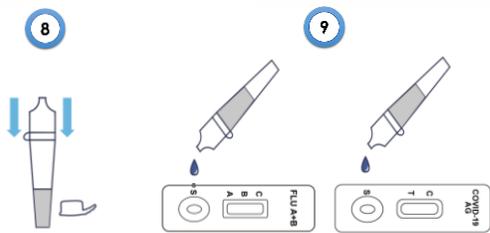
Recolección de la muestra:

3. Contemple las siguientes indicaciones:
 - a.1. Retire la envoltura protectora del hisopo nasofaríngeo. No manipule la cabeza del hisopo, tómelo del extremo del mango de plástico.
 - a.2. Inserte el hisopo nasal en el orificio nasal con la vía más despejada.
 - a.3. 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).
 - a.4. Rote el hisopo 5 veces o más contra la pared nasal.
 - a.5. Retire lentamente el hisopo del orificio nasal.
 - a.6. Usando el mismo hisopo, repita el procedimiento en el orificio nasal restante.

Procesamiento de la muestra:

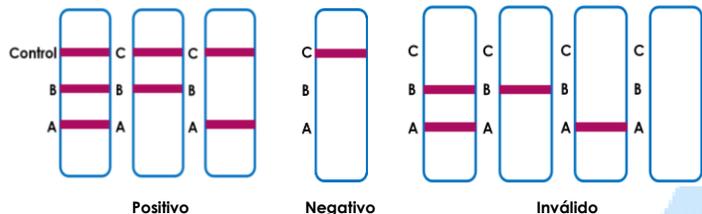
4. Retire la tapa blanca del tubo de extracción
5. Introduzca el hisopo en el tubo de extracción.
6. Humedezca todo el hisopo en la solución buffer. Incorpore la muestra con el buffer con ayuda del hisopo, realizando movimientos rotatorios por 10 segundos.
7. Presione el tubo para exprimir en lo posible 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 cartucho, específicamente en la zona de muestra (S). Procure no mover o manipular las pruebas después de agregar la muestra. Si después de 2 minutos no se observa migración agregue 1 gota más en la zona de muestra (S) del cartucho. Interprete los resultados a los 15 minutos. No leer después de 20 minutos.
- 10.





Interpretación de resultados

Influenza A y B



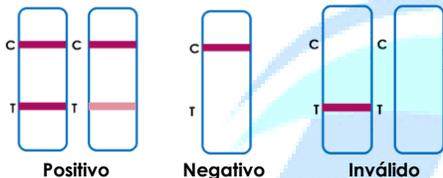
INFLUENZA A POSITIVO: Dos líneas de color aparecen. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y otra línea de color en la región de Influenza A (A). Un resultado positivo en la región A de influenza indica que se detectó el antígeno de la influenza tipo A en la muestra.

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

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

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

SARS-CoV-2



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 cápsida del virus SARS-CoV-2.

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).

NOTA: La intensidad del color en la región de prueba en todas las tiras 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.

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

- 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 período (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 presentación

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	qRT-PCR		Resultados totales	
	Resultado	Positivo		Negativo
Prueba rápida COVFLU-NET AMUNET	Positivo	109	1	110
	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	qRT-PCR		Resultados totales	
	Resultado	Positivo		Negativo
Prueba rápida COVFLU-NET AMUNET	Positivo	87	1	98
	Negativo	2	195	197
Resultados totales		99	196	285

Sensibilidad Relativa: 98.86% (95% IC: 98.67% - 100%)

Especificidad Relativa: 97.69% (95% IC: 97.69% - 99.86%)

Precisión Global: 98.04% (95% IC: 98.04% - 99.94%)

*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	qRT-PCR		Resultados totales	
	Resultado	Positivo		Negativo
Prueba rápida COVFLU-NET AMUNET	Positivo	142	1	143
	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 - 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.
- Betts, 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 el manual de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar entre 2 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar
	Uso para investigación		