

FLU-NET

(Exudado nasofaríngeo/Exudado faríngeo/Aspirado nasal)

IAB 0424/01 Registro Sanitario: 1094R2024 SSA

REF DMIAB01

Uso deseado

FLU-NET (Exudado nasofaríngeo/Exudado faríngeo/Aspirado nasal) es una prueba rápida basada en un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y diferencial de los antígenos de influenza A y B en muestras de exudado nasofaríngeo, exudado faríngeo o aspirado nasal.

‘Auxiliar en el diagnóstico diferencial por infecciones por respiratorias’

Resumen

Los virus de la influenza poseen un genoma de ARN negativo y forma parte de la familia Orthomyxoviridae. En la actualidad se conocen tres serotipos que se identifican en A, B o C. No obstante, solo el primero se le atribuye ser el mayor causante de los casos de influenza, especialmente en jóvenes y adultos. Debido a su capacidad de generar cambios en su estructura y evadir no solo al sistema inmune sino incluso a vacunas y retrovirales, es que ha tomado una gran relevancia pues desde la antigüedad han sido los responsables de epidemias y pandemias [1]. La transmisión de estos virus es principalmente por el contacto de gotitas que se producen al toser, estornudar o hablar por parte de una persona infectada así como de objetos y superficies contaminados, además de que no necesariamente la persona debe presentar síntomas para poder propagar este patógeno [2].

Los síntomas de la influenza pueden variar pues la enfermedad podría ser leve, grave o fatal, por lo tanto, algunos de estos son: fiebre, tos, dolor de garganta, secreción nasal, dolor de cabeza entre otros, aunque infecciones sinusales y del oído son complicaciones moderadas de la influenza y la neumonía sería una complicación grave [3]. La importancia de identificar a aquellos pacientes con influenza permite tomar mejores medidas para el manejo, atención de estos y evitar la propagación de estos virus [4].

Principio

La prueba rápida FLU-NET para la detección cualitativa y diferencial de los antígenos de influenza A y B en muestras de exudado nasofaríngeo, exudado faríngeo o aspirado nasal se basa en un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba es un cartucho, el cual contiene una membrana dividida en tres regiones: una para influenza A (A), otra para influenza B (B) y una de control (C). Dicha membrana posee un ‘conjugado’ conformado por partículas de oro coloidal e impresos anticuerpos de captura ‘anti-influenza A y anti-influenza B por separado’ y anticuerpos anti-ratón. Una vez que la muestra es depositada en el pozo ‘S’ del cartucho junto con el buffer, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígenos influenza A o B 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 o B, esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígenos de influenza A o B por encima del límite de detección se formará el complejo antígeno-anticuerpo generando la aparición de una línea de color en la región correspondiente A, B o ambas (si es el caso), esto indica un resultado positivo. La prueba incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó correctamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos de captura anti-influenza A/B y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad, ni mezcle componentes de diferentes lotes.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilice bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- El almacenamiento, transporte o colecta de muestras realizados de forma inadecuada, puede generar resultados falsos negativos.
- Asegúrese de utilizar una cantidad adecuada de muestra para la prueba. Demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
- Se recomienda no haberse lavado los dientes o ingerido alimentos 4 horas antes de la toma de muestra.
- Los resultados negativos deben combinarse con observaciones clínicas, historial del paciente e información epidemiológica.
- Es común que muestras con secreción nasal densa tarden más de lo normal en migrar.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la 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.

Almacenamiento de la muestra

- Una vez obtenida la muestra, no devuelva el hisopo a su contenedor original.

- Si por alguna razón no puede analizar la muestra inmediatamente, almacene el hisopo en un tubo colector de muestra y séllelo adecuadamente. La muestra puede permanecer así por un máximo de 60 minutos previo al análisis. Si el tiempo es excedido, la muestra dejará de ser viable y deberá ser tomada nuevamente.

Materiales

Incluidos:

- Prueba rápida en cartucho
- Tubo colector
- Buffer
- Manual de instrucciones
- Tapa cuentagotas

Requeridos, pero no incluidos:

- Temporizador
- Contenedor de muestra (s)

Obtención de muestra

Para muestra de exudado nasofaríngeo:

- Inserte el hisopo nasal en el orificio nasal con la vía más despejada.
 - a. 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).
 - b. Rote el hisopo 5 veces o más contra la pared nasal.
 - c. Retire lentamente el hisopo del orificio nasal.
 - d. Usando el mismo hisopo, repita el procedimiento en el orificio nasal restante.
 - e. Introduzca el hisopo en tubo colector como se detalla más adelante.

Para muestra de exudado faríngeo:

- Inserte un hisopo estéril en la faringe y evitando que el hisopo toque la saliva limpie toda la región del muro posterior de la faringe, luego el paladar (varias veces).

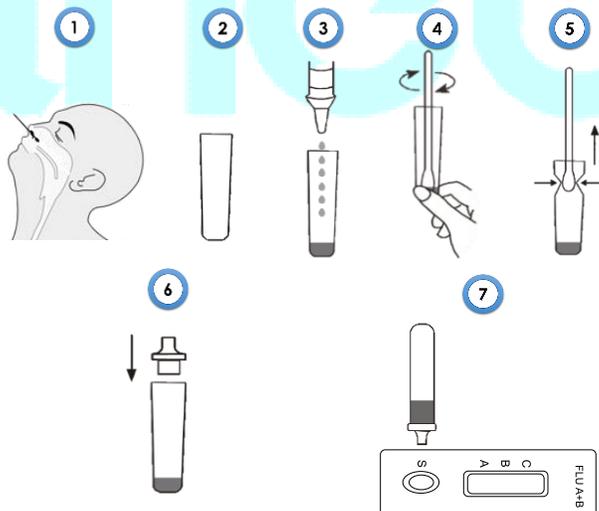
Para muestra de aspiración nasal:

- Conecte el catéter de aspiración a una trampa de aspiración misma que debe estar conectada a un dispositivo de aspiración. Posteriormente inserte el catéter a una cavidad nasal, inicie el dispositivo de aspiración y luego recoja la muestra del aspirado nasal. Sumerja el hisopo esterilizado dentro de la muestra nasal recolectada, procurando que el espécimen se adhiera a la esponja del hisopo lo máximo posible.

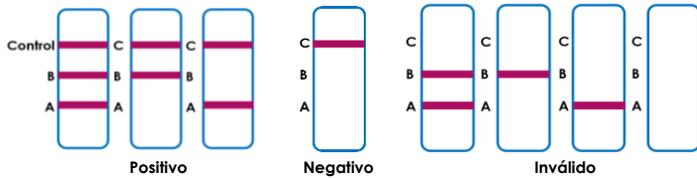
Instrucciones de uso

Permita que el cartucho, muestra y buffer alcancen temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Retire el cartucho de su bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación según el estado de la muestra:

1. Recolecte la muestra según las especificaciones anteriormente descritas.
2. Coloque el tubo colector verticalmente sobre una gradilla.
3. Agregue 10 gotas del buffer al tubo colector. Si la muestra presenta una cantidad considerable de secreción nasal densa, se recomienda agregar 13 gotas de buffer al tubo colector para mejorar la homogeneización.
4. Coloque el hisopo con la muestra en el tubo colector y gírelo vigorosamente. La correcta incorporación de la muestra en el buffer asegura un resultado confiable.
5. Retire el hisopo apretando el tubo colector contra este y deséchelo en un contenedor de RPBI.
6. Coloque la punta del gotero en la parte superior del tubo colector.
7. Agregue 3 gotas en la zona de la muestra (S) del cartucho. Si después de 2 minutos no se observa migración de la muestra agregue 1 gota de buffer en la zona de prueba del cartucho.
8. Interprete los resultados una vez hayan transcurrido 15 minutos.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

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 indica que se detectó el antígeno de la influenza 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 A indica que se detectó el antígeno de la influenza B en la muestra.

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

NOTA: La intensidad del color de las líneas en las regiones A o B variará en función de la cantidad de antígeno presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en dichas regiones debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región control (C). No aparece ninguna línea de color en las regiones A o B.

INVÁLIDO: La línea de color en la región control (C) no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falta de la línea de control. 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 o negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

Limitaciones

- Los resultados deben ser interpretados por un médico o personal calificado.
- Esta prueba solo es compatible con muestras de exudado nasofaríngeo, exudado faríngeo o aspirado nasal y el resultado a obtener puede verse influido según el momento en que se tomó la muestra, por lo tanto, contemple la presencia/ausencia de síntomas, temporada y exposición al virus para un mejor resultado.
- Esta prueba cualitativa no puede determinar el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos de Influenza A/B.
- La prueba rápida FLU-NET solo indica la presencia de antígenos correspondientes a los virus de la Influenza A y/o B en la muestra y no debe usarse como **único criterio** para el diagnóstico o exclusión de una infección por Influenza.
- La prueba rápida FLU-NET es capaz de identificar los antígenos de la influenza A y B de una amplia variedad de cepas, sin embargo, no proporciona cual cepa se detectó, por lo que el resultado no determina la severidad de la infección o el origen de ésta.
- Se recomienda que los resultados positivos se confirmen con una prueba molecular.
- La tonalidad que adquiera la membrana no interfiere en el resultado. Mientras la línea de color en la región C se visualice, el resultado es válido.
- En los casos generados en el momento pico más alto de influenza un resultado negativo obtenido por esta prueba debe confirmarse por alguna prueba molecular como RT-PCR para descartar la infección en estos individuos.
- Puede obtenerse un resultado positivo en pacientes recuperados de una infección por influenza.
- Los períodos de incubación 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 FLU-NET (Exudado nasofaríngeo/Exudado faríngeo/Aspirado nasal) ha sido comparada con una prueba de qRT-PCR. La correlación entre estos dos sistemas es de más del 98%.

Características de rendimiento

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida FLU-NET para evaluar muestras de exudado nasofaríngeo, exudado faríngeo y aspirado nasal provenientes de pacientes infectados 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:

FLU-NET (Influenza A)	qRT-PCR			
	Resultados	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	109	1	110
	Negativo	1	174	175
	Total	110	175	285

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

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

Precisión relativa: 99.30% (95% IC: 97.48%-99.81%)

IC: Intervalo de Confianza

FLU-NET (Influenza B)	qRT-PCR			
	Resultados	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	87	1	98
	Negativo	2	195	197
	Total	89	196	285

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

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

Precisión relativa: 98.95% (95% IC: 96.95%-99.64%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 20 réplicas por cada una de las siguientes concentraciones: 0, 0.1, 0.2 y 0.5 ng/mL. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de cada prueba fue determinada mediante 20 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes concentraciones: 0, 0.1, 0.2 y 0.5 ng/mL. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Evaluación con cepas de influenza

Cada una de las siguientes cepas de influenza fue evaluada obteniendo un resultado positivo con la prueba rápida FLU-NET:

Influenza A	Influenza B
A/NWS/3310 (H1N1)	A/Duck/Hubei/216/1983(H7N8)
A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	A/Duck/Hubei/137/1982(H10N4)
A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	A/Anhui/1/2013(H7N9)
A/WS/33 (H1N1)	B/R5
A/Nueva Jersey/8/76 (HswN1)	B/Russia/69
A/Mal/302/54(H1N1)	B/Lee/40
A/chicken/Yuyao/2/2006(H5N1)	B/Hong Kong/5/72
A/swine/Hubei/251/2001 (H9N2)	

Reactividad cruzada

Se evaluaron los siguientes elementos del panel de verificación respiratoria 2 NATrol™ (NATRP2-BIO). Ninguno de los que se indican a continuación presentó reactividad cruzada positiva cuando se utilizó la prueba rápida FLU-NET (Exudado nasofaríngeo/Exudado faríngeo/Aspirado nasal):

Metapneumovirus 8 (Peru6-2003)	Coronavirus 229E
Virus sincitial respiratorio A	Coronavirus OC43
Rhinovirus 1A	Coronavirus HKU-1
Virus Parainfluenza tipo 1	M. pneumoniae (M129)
Virus Parainfluenza tipo 2	C. pneumoniae (CWL-029)
Virus Parainfluenza tipo 3	B. pertussis (A639)
Virus Parainfluenza tipo 4	Adenovirus tipo 31
Adenovirus tipo 3	Adenovirus tipo 1
Coronavirus NL63	B. paraptussis (A747)

Referencias

- [1]. El virus influenza. 2009. ISSN 1409-0090/2009/21/1/5-7
- [2]. CDC. (2022). Propagación de la influenza
- [3]. CDC. (2022). Síntomas de la influenza y sus complicaciones
- [4]. IMSS. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Influenza A (H1N1). ISBN: 978-607-7790-20-4

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño in vitro
	Almacenar entre 15 – 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado

	Caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	No reutilizar