

SARS-CoV-2, Influenza A+B, (ADV), (RSV) y (MP).

Prueba de detección rápida cualitativa de los antígenos del SARS-CoV-2, Influenza A+B, (ADV), (RSV) y el (MP) en muestras de frotis bucales y nasales humanos

Uso:

La prueba combinada de antígenos de COVID-19, Influenza A y B, ADV, RSV y MP es un inmunoensayo rápido para la detección cualitativa de los antígenos del SARS-CoV-2, la gripe A+B, el adenovirus, el virus respiratorio sincitial (RSV) y el Mycoplasma pneumoniae (MP) en muestras de frotis bucales y nasales humanos, exclusivamente para uso diagnóstico in vitro.

Principio:

En esta prueba, los anticuerpos específicos contra la COVID-19, la influenza A y B, el adenovirus (ADV), el virus respiratorio sincitial (RSV) y el Mycoplasma pneumoniae (MP) se recubren por separado en las regiones de la línea de prueba de la membrana.

Durante la prueba, la muestra extraída reacciona con los anticuerpos contra la COVID-19, la influenza A y/o la influenza B, el adenovirus (ADV), el virus respiratorio sincitial (RSV) y el Mycoplasma pneumoniae (MP) que se encuentran recubriendo las partículas. La mezcla migra hacia arriba por la membrana para reaccionar con los anticuerpos contra la COVID-19, la gripe A y/o la gripe B, el adenovirus, el virus respiratorio sincitial (RSV) y el Mycoplasma pneumoniae (MP) presentes en la membrana, generando una, dos o tres líneas de color en las regiones de prueba. La presencia de esta línea de color en una, dos o tres de las zonas de prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Independientemente de que la muestra contenga antígenos de la COVID-19, la gripe A y/o la gripe B, el adenovirus, el virus respiratorio sincitial (RSV) y el Mycoplasma pneumoniae (MP) o no, aparecerá una línea roja en la zona de control de calidad (C). La línea roja que aparece en la zona de control de calidad (C) es el criterio para determinar si hay suficiente muestra y si el proceso cromatográfico es normal, y también sirve como estándar de control interno para el reactivo.

Almacenamiento y Estabilidad:

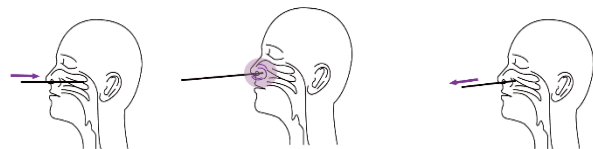
Almacene el kit de prueba por debajo de 2 °C a 35 °C. No congelar. Utilice el kit hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Recolección de la Muestra:

Utilice el hisopo incluido en el kit.

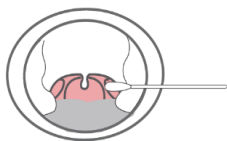
• Recogida de secreciones nasales anteriores:

1. El paciente debe sonarse la nariz antes de recoger la muestra. Introduce con cuidado el hisopo en la fosa nasal. La punta del hisopo debe introducirse entre 1 y 1,5 cm desde el borde de la fosa nasal.
2. Gira lentamente el hisopo, frotándolo por el interior de la fosa nasal durante 15 segundos. (aproximadamente 5 veces).
3. Retira el hisopo con cuidado.
4. Con el mismo hisopo, repite los pasos (1) a (3) en la otra fosa nasal.



• Recogida de secreciones faríngeas:

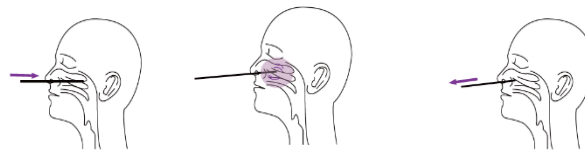
1. Introduce el hisopo completamente desde la boca hasta la garganta, centrándolo en la parte roja de la pared faríngea y las amígdalas maxilares.
2. Frota moderadamente las amígdalas faríngeas bilaterales y la pared faríngea.
3. Evita tocar la lengua y retira el hisopo.



• Recogida de secreciones nasales:

1. Introduce con cuidado el hisopo en la fosa nasal del paciente, hasta alcanzar la superficie de la parte posterior de la nasofaringe. Es la zona que presenta mayor cantidad de secreción a simple vista.
2. Pase el hisopo por la superficie de la parte posterior de la nasofaringe. Gire el hisopo varias veces.

3. Retire el hisopo de la cavidad nasal.



Las muestras deben tratarse con la solución de recogida de virus o con la solución de extracción de muestras incluida en este kit lo antes posible tras su recogida

Precauciones:

- Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en la zona donde se manipulen las muestras o los kits.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observar las precauciones establecidas contra los agentes microbiológicos durante la realización de las pruebas y siga los procedimientos para la correcta eliminación de las muestras.
- Utilice ropa protectora, como batas de laboratorio guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.
- La intensidad del color de la línea de prueba no está necesariamente relacionada con la concentración del antígeno en la muestra, y el resultado interpretado pasados 15 minutos no es válido.

Materiales Proporcionados:

- Cassettes. La cantidad de cassettes de pruebas están indicadas en la caja.
- Buffer en tubos de recolección de muestras con cuenta gotas.
- Hisopos estériles.
- Inserto.

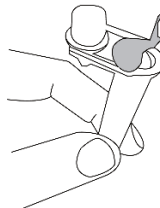
Materiales Requeridos (Pero no provistos):

- Temporizador.

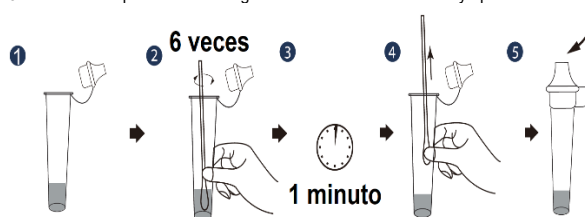
Procedimiento de la Prueba:

• Extracción de muestras:

1. Tome un tubo de extracción y retira con cuidado la lámina de aluminio sellada del tubo de extracción. No dejes que se derrame el buffer de extracción.

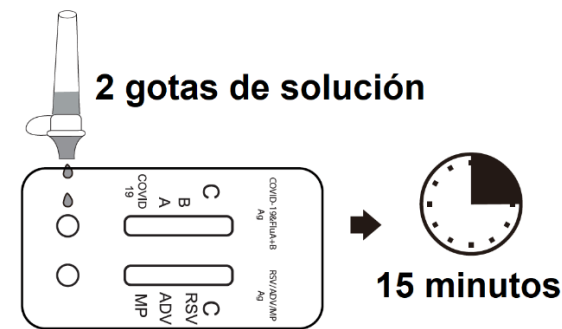


2. Introduce la muestra del hisopo en el tubo de extracción que contiene el buffer de extracción. Gira el hisopo al menos 6 veces mientras presionas la punta contra el fondo y el lateral del tubo de extracción.
3. Deja el hisopo en el tubo de extracción durante un minuto.
4. Retira el hisopo mientras aprietas los laterales del tubo para extraer el líquido del hisopo. La solución extraída se utilizará como muestra de análisis.
5. Introduce la punta del cuentagotas en el tubo de extracción y apriétala bien.

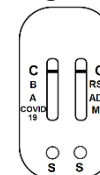


• Operaciones de detección:

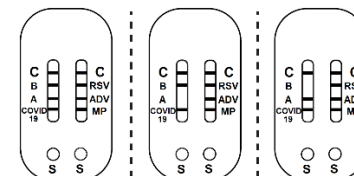
1. Abre una bolsita que contenga un casete de prueba. Coloca el casete de prueba sobre una superficie de trabajo seca y horizontal.
2. Añade 2 gotas (aproximadamente 60 µl) del extracto de la solución de muestra al pocillo de muestra correspondiente del casete de prueba.
3. Observe los resultados que aparecen en un plazo de 10 a 15 minutos; los resultados que aparezcan pasados los 15 minutos no tienen relevancia clínica.



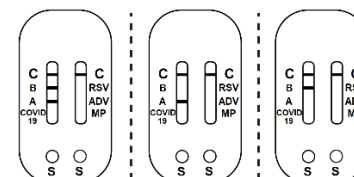
Negativo



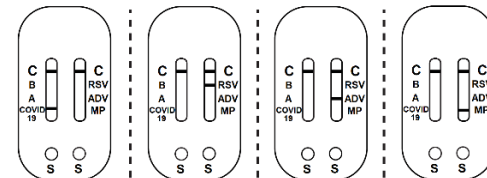
Positivo COVID-19/INFL/RSV/ADV/MP



Positivo Influenza A/B



Positivo COVID-19 Positivo RSV Positivo ADV Positivo MP



Interpretación de Resultados:

Negativo: Solo aparece una línea roja en la zona de control de calidad (C) y no aparece ninguna línea en la zona de prueba (T).

Positivo: Aparecen una línea roja en la zona de prueba (T) y una línea roja en la zona de control de calidad (C).

No válido: No aparece ninguna línea roja en el área de control de calidad (C). Esto indica que el procedimiento no se ha realizado correctamente o que el casete de prueba está deteriorado o dañado. Repita la prueba con un nuevo kit. Si el problema persiste, deje de utilizar este número de lote inmediatamente y póngase en contacto con su proveedor local.

Limitaciones del Procedimiento:

1. El kit de prueba combinada de antígenos de COVID-19/Influenza A+B/ADV/RSV/MP está destinado al diagnóstico in vitro profesional y solo debe utilizarse para la detección cualitativa del SARS-CoV-2, la gripe A+B, el adenovirus, el virus respiratorio sincitial (RSV) y el Mycoplasma pneumoniae (MP) en muestras de frotis nasal y faríngeo. Esta prueba cualitativa no permite determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de la concentración de SARS-CoV-2, gripe A+B, adenovirus, virus respiratorio sincitial (RSV) y Mycoplasma pneumoniae (MP).
2. La precisión de la prueba depende de los procedimientos de recogida, manipulación, almacenamiento y realización de la prueba. Una recogida inadecuada de las muestras, un almacenamiento incorrecto de las mismas, muestras que no sean recientes o ciclos repetidos de congelación-descongelación de las muestras afectarán a los resultados de la prueba.
3. La presencia de determinados fármacos en la muestra recogida, como altas concentraciones de medicamentos de venta libre y con receta (aerosoles nasales), puede interferir en los resultados. Si los resultados son sospechosos, repita la prueba.
4. El cassette de prueba solo proporciona una detección cualitativa del SARS-CoV-2, la influenza A y B, el adenovirus, el virus respiratorio sincitial (RSV) y el Mycoplasma pneumoniae (MP) en la muestra. Si necesita detectar el contenido específico de un indicador, utilice los instrumentos profesionales pertinentes.
5. El resultado de la prueba de este kit tiene carácter meramente informativo desde el punto de vista clínico y no debe utilizarse como única base para el diagnóstico y el tratamiento clínicos. El manejo clínico de los pacientes debe valorarse teniendo en cuenta sus síntomas y signos, su historial médico, otras pruebas de laboratorio y la respuesta al tratamiento.
6. Debido a las limitaciones del método de los reactivos de detección de antígenos, su sensibilidad analítica es, por lo general, inferior a la de los reactivos de ácidos nucleicos.
- Por lo tanto, los investigadores deben prestar mayor atención a los resultados negativos y deben realizar una valoración global en combinación con los resultados de otras pruebas. Se recomienda revisar los resultados negativos sospechosos mediante cultivo celular.
7. Análisis de la posibilidad de resultados falsos negativos:
- Una recogida, transporte y procesamiento inadecuados de las muestras, así como una concentración demasiado baja de las sustancias analizadas en las muestras, pueden dar lugar a resultados falsos negativos.
 - Las variaciones genéticas del virus pueden provocar cambios en los determinantes antigénicos, lo que puede dar lugar a resultados falsos negativos. Esto es más probable que ocurra cuando se utilizan reactivos de anticuerpos monoclonales.
 - Aún no se han verificado el tipo de muestra óptimo ni el momento óptimo de toma de muestras (título viral máximo) tras la infección, por lo que la recogida de muestras fraccionada, en varias partes del mismo paciente, puede evitar resultados falsos negativos.

Control de Calidad:

Los controles internos de procedimiento se incluyen en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es un control positivo interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. De no observarse ninguna línea en la zona de control (C) de la membrana de reacción, significa que la muestra no se ha añadido correctamente o que la prueba podría haberse deteriorado.

No obstante, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba.

Características del Desempeño:

- Límite de detección:
- a. COVID-19.
- El estudio utilizó antígeno de proteína N recombinante purificada para las pruebas; el límite de detección es de 0,05 ng/mL.
- El estudio utilizó cultivo de virus inactivado para las pruebas; el límite de detección es de 1,5 × 10² TCID₅₀/mL
- b. Influenza A(H1N1).
- El estudio utilizó un cultivo de virus inactivado para las pruebas; el límite de detección es de 1,0 × 10⁴ TCID₅₀/mL.
- c. Influenza A (H3N2).
- El estudio utilizó un cultivo de virus inactivado para las pruebas; el límite de detección es de 2,5 × 10⁴ TCID₅₀/mL.
- d. Influenza B (H3N2).
- El estudio utilizó un cultivo de virus inactivado para las pruebas; el límite de detección es de 1,0 × 10⁴ TCID₅₀/mL.
- e. Adenovirus (ADV).
- El estudio utilizó un cultivo de virus inactivado para las pruebas; el límite de detección es de 2,0 × 10² TCID₅₀/mL.
- f. RSV.
- El estudio utilizó un cultivo de virus inactivado para las pruebas; el límite de detección es de 2,0 × 10² TCID₅₀/mL.
- g. MP.
- El estudio utilizó cultivo de virus inactivado para las pruebas; el límite de detección es de 5,0 × 10³ UFC/mL.

Análisis de sensibilidad y especificidad:

- a. COVID-19.
- Detección de 3 productos de referencia de sensibilidad al antígeno COVID-19 (S1, S2, S3), y el resultado es positivo para S1; positivo o negativo para S2; negativo para S3.

- Detección de 5 productos de referencia corporativos positivos para el antígeno COVID-19, y los resultados fueron todos positivos
- Detección de 5 productos de referencia corporativos negativos para el antígeno COVID-19, y los resultados fueron negativos.
- b. Influenza A+B.
- Detección de 3 productos de referencia de sensibilidad al antígeno de la gripe A+B (S1, S2, S3), y el resultado es positivo para S1; positivo o negativo para S2; negativo para S3.
- Detección de 10 productos de referencia corporativos positivos para el antígeno de la gripe A+B, y todos los resultados fueron positivos.
- Detección de 10 productos de referencia corporativos negativos para el antígeno de la gripe A+B, y los resultados fueron negativos.
- c. Adenovirus (ADV).
- Detección de 3 productos de referencia de sensibilidad (L1, L2, L3), y el resultado es positivo para L1 y L2; positivo o negativo para L3.
- Detección de 10 productos de referencia corporativos positivos, y todos los resultados fueron positivos.
- Detección de 10 productos de referencia corporativos negativos, y los resultados fueron negativos.
- d. RSV.
- Detección de 3 productos de referencia de sensibilidad (L1, L2, L3), y el resultado es positivo para L1 y L2; positivo o negativo para L3.
- Detección de 10 productos de referencia corporativos con antígeno MP positivo, y todos los resultados fueron positivos.
- Detección de 10 productos de referencia corporativos con antígeno MP negativo, y los resultados fueron negativos.

Efecto HOOK:

- a. COVID-19.
- El kit probó 100 µg/ml de proteína recombinante purificada y no se observa efecto gancho de dosis alta.
- b. Influenza A.
- El kit probó 1,0 × 10⁶ TCID₅₀/ml de cultivo de virus inactivado y no se observa efecto gancho de dosis alta.
- H1N1: El kit probó 1,0 × 10⁶ TCID₅₀/ml de cultivo de virus inactivado y no se observa efecto gancho de dosis alta.
- H2N3: El kit probó 1,0 × 10⁶ TCID₅₀/mL de cultivo de virus inactivado y no se observó efecto gancho de dosis alta.
- c. Influenza B.
- El kit probó 1,0 × 10⁶ TCID₅₀/mL de cultivo de virus inactivado y no se observó efecto gancho de dosis alta.
- d. Adenovirus (ADV).
- El kit probó 1,0 × 10⁶ TCID₅₀/mL de cultivo de virus inactivado y no se observó efecto gancho de dosis alta.
- e. RSV.
- El kit probó 1,0 × 10⁶ TCID₅₀/mL de cultivo de virus inactivado y no se observó efecto gancho de dosis alta
- f. MP.
- El kit probó 1,0 × 10⁷ UFC/mL de cultivo de virus inactivado y no se observó efecto gancho de dosis alta.

Sensibilidad y especificidad diagnóstica:

- COVID-19
- Se recolectaron 246 muestras de sujetos seleccionados. Calcule la especificidad y la sensibilidad; los resultados son los siguientes:

Kit Evaluado	Prueba de ácido nucleico (RT-PCR)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	103	0	103
Negativo	2	141	143
Total	105	141	246

Sensibilidad diagnóstica: 98,10%.

Especificidad diagnóstica: 100%.

Tasa de coincidencia global: 99,19%.

- Influenza A.
- Se recolectaron 246 muestras de sujetos seleccionados. Calcule la especificidad y la sensibilidad; los resultados son los siguientes:

Kit Evaluado	Prueba de ácido nucleico (RT-PCR)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	66	3	69
Negativo	4	173	177
Total	70	176	246

Sensibilidad diagnóstica: 94,29%.

Especificidad diagnóstica: 98,30%.

Tasa de coincidencia global: 97,15%.

- Influenza B.
- Se recolectaron 246 muestras de sujetos seleccionados. Calcule la especificidad y la sensibilidad; los resultados son los siguientes:

Kit Evaluado	Prueba de ácido nucleico (RT-PCR)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	57	2	59
Negativo	4	183	187
Total	61	185	246

Sensibilidad diagnóstica: 93,44%.

Especificidad diagnóstica: 98,92%.

Tasa de coincidencia global: 97,56%.

- Adenovirus (ADV).
- Se recolectaron 304 muestras de sujetos seleccionados. Calcule la especificidad y la sensibilidad; los resultados son los siguientes:

Kit Evaluado	Prueba de ácido nucleico (RT-PCR)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	88	2	90
Negativo	3	211	214
Total	91	213	304

Sensibilidad diagnóstica: 96,70%.

Especificidad diagnóstica: 98,06%.

Tasa de coincidencia global: 98,36%.

- RSV.
- Se recolectaron 304 muestras de sujetos seleccionados. Calcule la especificidad y la sensibilidad; los resultados son los siguientes:

Kit Evaluado	Prueba de ácido nucleico (RT-PCR)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	56	2	58
Negativo	2	244	246
Total	58	246	304

Sensibilidad diagnóstica: 96,55%.

Especificidad diagnóstica: 99,19%.

Tasa de coincidencia global: 98,68%.

- MP.
- Se recolectaron 322 muestras de sujetos seleccionados. Calcule la especificidad y la sensibilidad; los resultados son los siguientes:

Kit Evaluado	Prueba de ácido nucleico (RT-PCR)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	45	2	47
Negativo	3	202	205
Total	48	204	254

Sensibilidad diagnóstica: 93,75%.

Especificidad diagnóstica: 99,02%.

Tasa de coincidencia global: 98,16%.

Referencias:

- 1.Zheng Yuan,Shang Jian,Yang Yang,Liu Chang,Wan Yushun,GengQibin,Wang Michelle,Baric Ralph,Li Fang. Lysosomal Proteases Are a Determinant of CoronavirusTropism.[J].Journalofvirology,2018,92(24).
- 2.Liya Ye,Xiaoling Wu,Liguang Xu,Qiankun Zheng,Hua Kuang. Preparation of an anti-thiamethoxam monoclonal antibody for development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay and a colloidal gold immunoassay[J].Food and Agricultural Immunology,2018,29(1).
- 3.Spiridon Topoulos,Christian Giesa,Sören Gatermann,Rene Fussen,Sebastian Lemmen,Santiago Ewig. Analysis of acute respiratory infections due to influenza virus A, B and RSV during an influenza epidemic 2018[J]. Infection,2019,47(3).
4. Trabattoni,V. Le,B. Pilimis, G. Pean de Ponfilly, C. Caisso, C. Couzigou, B. Vidal, A. Mizrahi, O. Ganansia, A. Le Monnier, B. Lina, J. C. Nguyen Van. Implementation of Aleré i Influenza A & B point of care test for the diagnosis of influenza in an ED[J]. American Journal of Emergency Medicine, 2018, 36(6).
5. Yano T , Ichikawa Y , Komatu S ,et al.Association of Mycoplasma pneumoniae antigen with initial onset of bronchial asthma.[J].Am J Respir Crit Care Med, 1994.DOI:10.1164/ajrccm.149.5.8173777.

