
CERTEST

SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

ONE STEP SARS-CoV-2, Influenza
type A and Influenza type B Ag
COMBO CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



ENGLISH

INTENDED USE

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B one step combo card test is a coloured chromatographic immunoassay for the simultaneous qualitative detection of nucleoprotein antigen of SARS-CoV-2, *Influenza* type A and *Influenza* type B from nasopharyngeal swab samples from patients suspected of COVID-19 infection and/or *Influenza A* and/or *Influenza B* infection.

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test offers a simple and highly sensitive screening assay as aid in the diagnosis of SARS-CoV-2 and/or *Influenza* type A and/or *Influenza* type B infection.

INTRODUCTION

An unseen pneumonia spread swiftly in Wuhan, China, in December 2019. Scientists sequenced and recognized a novel β -coronavirus.

The disease, caused by the Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2), is called as Coronavirus disease 2019 (COVID-19).

Coronaviruses (CoVs) are RNA, enveloped viruses, with a large genome (29.9 kb), amongst which β -CoVs and α -CoVs can infect mammals. Viruses belonging to the Coronaviridae family have the most abundant membrane protein (M) among other proteins, i.e. spike glycoprotein (S), nucleocapsid protein (N) and an envelope protein (E). Spike glycoprotein (S) is one of the targets of T cell response in the immune system. The S protein also promotes the binding of the virus envelope to the ACE2 receptor and the entry of the virus into the cell target. ACE2 receptors are present in cells of the arteries, veins, smooth muscles, small intestine, alveoli of the lungs, hair follicles, cardiac myofibroblasts, skin, brain, and kidney, thus SARS-CoV-2 could potentially infect these tissues.

Clinical forms of this disease comprise from mild to very severe symptoms: pneumonia, fever and respiratory symptoms are the most frequent. Other symptoms of the viral infection include a sore throat, aches, pains, and shortness of breath. In some cases, runny nose, nausea, and diarrhea also occur.

The outbreak of newly discovered coronavirus begins mainly via discharge from the nose or droplets of saliva, once an infected individual sneezes or coughs, and the estimated time for incubation is within 2 weeks. Due to the high infectious rate of SARS-CoV-2, detection of asymptomatic positive patients is probably one of the key points to controlling the outbreak.

Influenza is caused by a virus that attacks mainly the upper respiratory tract - the nose, throat and bronchi and rarely also the lungs. The infection usually lasts for about a week. It is characterized by sudden onset of high fever, myalgia, headache and severe malaise, non-productive cough, sore throat, and rhinitis. Most people recover within one to two weeks without requiring any medical treatment. In the very young, the elderly and people suffering from medical conditions such as lung diseases, diabetes, cancer, kidney or heart problems, *Influenza* poses a serious risk. In these people, the infection may lead to severe complications of underlying diseases, pneumonia and death.

The currently circulating influenza viruses that cause human disease are divided into two groups: A and B. *Influenza A* has 3 subtypes which are important for humans: A (H3N2), A (H1N1) and A (H5N1), of which the former is currently associated with most deaths. *Influenza* viruses are defined by 2 different protein components, known as antigens, on the surface of the virus. They are spike-like features called haemagglutinin (H) and neuraminidase (N) components.

TEST PRINCIPLE

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B one step combo card test is a coloured chromatographic immunoassay for the simultaneous qualitative detection of nucleoprotein antigen of SARS-CoV-2, *Influenza* type A and *Influenza* type B from nasopharyngeal swab samples from patients suspected of COVID-19 infection and/or *Influenza A* and/or *Influenza B* infection.

Strip A consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against SARS-CoV-2 and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-SARS-CoV-2) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming coloured conjugate complexes.

Strip B consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Influenza* type A and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*Influenza* type A) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming coloured conjugate complexes.

Strip C consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Influenza* type B and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*Influenza* type B) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

*One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette*

If the sample is SARS-CoV-2 positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugates complex (anti-SARS-CoV-2 monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip A and if the sample is *Influenza A* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugated complex (anti-*Influenza* type A monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip B, which were previously pre-dried on the absorbent pad and if the sample is *Influenza* type B positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugated complex (anti-*Influenza* type B monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip C, which were previously pre-dried on the absorbent pad. The mixtures then move upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-SARS-CoV-2 antibodies present on the membrane of strip A (test line), the anti-*Influenza* type B antibodies present on the membrane of strip B (test line) and the anti-*Influenza* type B antibodies present on the membrane of strip C (test line) capture the coloured conjugate and a red line will be visible in the strips. These bands are used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no SARS-CoV-2, *Influenza* type A, *Influenza* type B antigens presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with any red-coloured conjugate complex. The anti-SARS-CoV-2, the anti-*Influenza* type A and the anti-*Influenza* type B antibodies present on the membranes (test lines) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red lines will not appear.

Whether the sample is positive or not, in the three strips, the mixture continues to move across the membranes to the immobilized specific antibodies placed in the control lines. The anti-specific protein antibodies present on the three membranes will capture control green-conjugate complex and the three control lines will always appear. The presence of these green lines serves as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors. Please remember that COVID-19 infection is very dangerous.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provided in the kit are approved for use in the CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B test. Do not use any other commercial kit component.
- Sterile swabs provided in the kits should be only used for taking the nasopharyngeal sample collection. They cannot be reuse.
- Do not touch the head of the sterile swabs provided when opening their primary packaging to avoid contamination.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- All positive results should be processed following local laws and regulations.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

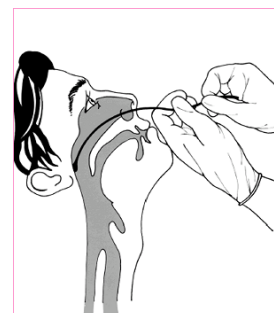
Samples should be process as soon as possible after collection. If this is not possible, the samples can be stored in the refrigerator (2-8 °C) for 8 hours prior to testing.

Specimen preparation (see illustration):

Nasopharyngeal swab method:

1. Remove the swab from its packing.
2. Collect specimen with a sterile swab from one nostril.
3. Insert the swab into the nostril to the nasopharynx, rotating against the wall.
(to ensure swab contains cells as well as mucus).
4. Repeat procedure using other nostril.
5. Process the swab as soon as possible after collecting the specimen.

Follow the test procedure.



Specimen collection

Samples previously extracted by transport media:

Even while using direct nasopharyngeal swab is the preferred protocol, the device can be also used with samples from nasopharyngeal swabs previously diluted in transport media such as: VTM, UTM or Saline Buffer.

1. Use the minimum volume of transport media in order to avoid loss in sensitivity. Example: 1.0 mL. Using higher volumes will affect sensitivity of the system.
2. Dilute the extracted sample 1:1 in Reagent SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (sample diluent) provided.

Follow immediately with the point 3 of test procedure.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card tests
- Reagent SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (sample diluent)
- Swabs
- Disposable pipettes
- Testing tubes
- Instructions for use
- Laboratory rack
- CerTest SARS-CoV-2 Positive Control swab + Instructions for use
- CerTest Influenza A Positive Control swab + Instructions for use
- CerTest Influenza B Positive Control swab + Instructions for use

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

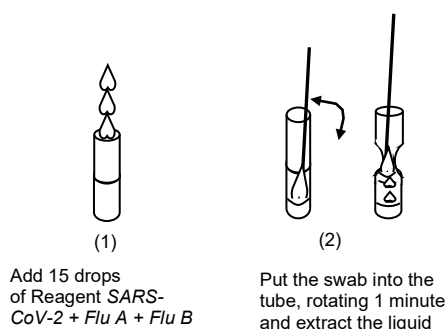
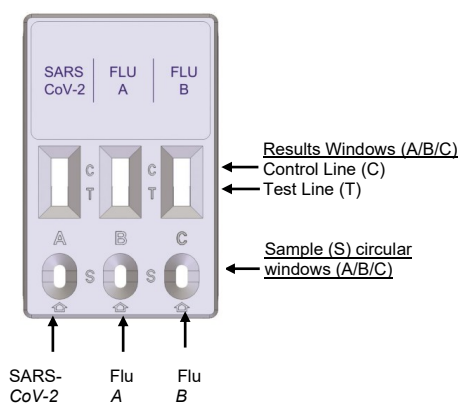
- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

TEST PROCEDURE

Allow tests, samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Add 15 drops (approx. 500µL) (1) Reagent SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B and immediately put the swab into the tube.
2. Mix the solution by rotating the swab forcefully against the side of the tube at least 1 minute. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution (2). Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the tube or rotating the swab against the side of the tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
3. Remove the CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test from its sealed bag just before using it.
4. Use a separate pipette and test for each sample or control. Dispense 3 drops (approx. 120µL) from the testing tube, into the circular window marked with the letter A (3) and 3 drops (approx. 120µL), using the same tube, into the circular window marked with the letter B (4), and 3 drops (approx. 120µL) using same tube, into the circular window marked with the letter C (5).
5. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.

If the test does not run due to the type of sample, stir the sample added in the sample window (S) with the pipette. If it doesn't work, dispense a drop of Reagent SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B until seeing the liquid running through the reaction zone.

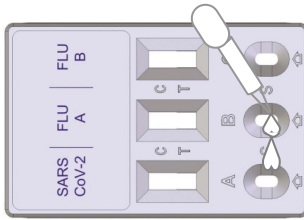


CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

SARS-CoV-2 Strip A-procedure

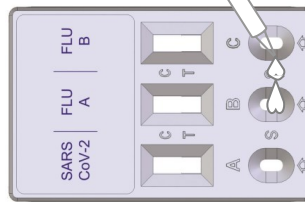
Add 3 drops in A-circular window



(3)

Influenza type A Strip B-procedure

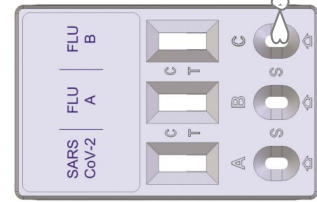
Add 3 drops in B-circular window



(4)

Influenza type B Strip C-procedure

Add 3 drops in C-circular window



(5)

INTERPRETATION OF THE RESULTS (please refer to the illustration below)

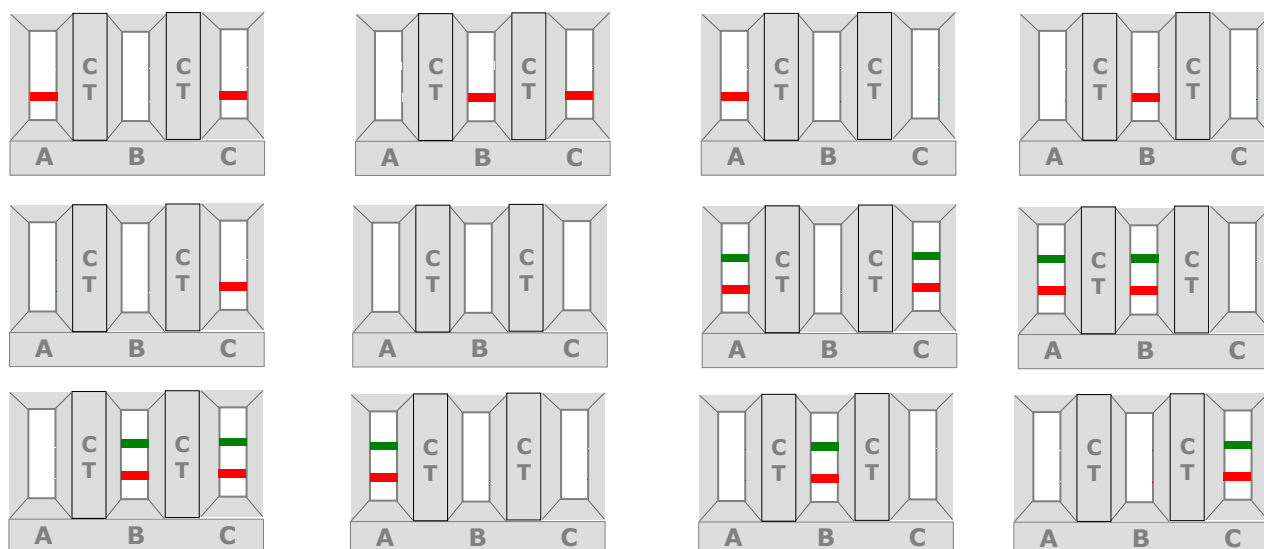
- A: Green→Negative SARS-CoV-2
B: Green→Negative Influenza A
C: Green→Negative Influenza B
- A: Green/Red→Positive SARS-CoV-2
B: Green/Red→Positive Influenza A
C: Green/Red→Positive Influenza B
- A: Green/Red→Positive SARS-CoV-2
B: Green/Red→Positive Influenza A
C: Green→Negative Influenza B
- A: Green/Red→Positive SARS-CoV-2
B: Green→Negative Influenza A
C: Green/Red→Positive Influenza B
- A: Green/Red→Positive SARS-CoV-2
B: Green→Negative Influenza A
C: Green→Negative Influenza B
- A: Green→Negative SARS-CoV-2
B: Green/Red→Positive Influenza A
C: Green/Red→Positive Influenza B
- A: Green→Negative SARS-CoV-2
B: Green/Red→Positive Influenza A
C: Green→Negative Influenza B
- A: Green→Negative SARS-CoV-2
B: Green→Negative Influenza A
C: Green/Red→Positive Influenza B

INVALID RESULTS

-

CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette



	A (SARS-CoV-2)	B (Influenza A)	C (Influenza B)	Interpretation of the results
1.	-	-	-	There is no SARS-CoV-2, <i>Influenza</i> type A, <i>Influenza</i> type B antigens presence in sample.
	GREEN	GREEN	GREEN	
2.	+	+	+	There is SARS-CoV-2, <i>Influenza</i> type A, <i>Influenza</i> type B antigens presence in sample.
	GREEN-RED	GREEN-RED	GREEN-RED	
3.	+	+	-	There is SARS-CoV-2 and <i>Influenza</i> type A antigens presence in the sample. There is no <i>Influenza</i> type B antigens presence in the sample.
	GREEN-RED	GREEN-RED	GREEN-RED	
4.	+	-	+	There is SARS-CoV-2 and <i>Influenza</i> type B antigens presence in the sample. There is no <i>Influenza</i> type A antigens presence in the sample.
	GREEN-RED	GREEN-RED	GREEN	
5.	+	-	-	There is SARS-CoV-2 antigens presence in the sample. There is no <i>Influenza</i> type A and type B antigens presence in the sample.
	GREEN-RED	GREEN	GREEN-RED	
6.	-	+	+	There is <i>Influenza</i> type A and type B antigens presence in the sample. There is no SARS-CoV-2 antigens presence in the sample.
	GREEN	GREEN-RED	GREEN-RED	
7.	-	+	-	There is <i>Influenza</i> type A antigens presence in the sample. There is no SARS-CoV-2 and <i>Influenza</i> type B antigens presence in the sample.
	GREEN-RED	GREEN-RED	GREEN	
8.	-	-	+	There is <i>Influenza</i> type B antigens presence in the sample. There is no SARS-CoV-2 and <i>Influenza</i> type A antigens presence in the sample.
	GREEN	GREEN	GREEN-RED	
9.	Invalid result: either A, B or C, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.			

Whatever result detailed in the above-mentioned table (2 to 8) should be followed up with additional confirmatory diagnostic procedures.

Whatever results detailed between 2 and 6 are not very common. Dual simultaneous respiratory infections are more frequent than triple respiratory virus infection.

INVALID: Total absence of any control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test lines (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control lines failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.



CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured bands in the test lines (T) in the results windows will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. The green lines appearing in the control lines (C) in the results windows are internal controls, which confirm sufficient specimen volume and correct procedural technique.

RECOMMENDATIONS

Recommendations World Health Organization: *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays- 11 September 2020.*

1. To optimize performance, testing should be conducted by trained operators in strict accordance with the test procedure and within the first 5-7 days following the onset of symptoms.
2. Where possible, all positive samples giving positive results should be transported to laboratories with NAAT (Nucleic acid amplification tests) capability for confirmatory testing.
3. This test could be used to screen at-risk individuals and rapidly isolate positive cases in NAAT- confirmed COVID-19 outbreaks.
4. To monitor trends in disease incidence in communities.
5. For early detection and isolation of positive cases in health facilities, where there is widespread community transmission.
6. A negative result cannot completely exclude an active COVID-19 infection, repeat testing or preferably confirmatory testing should be performed (NAAT) whenever possible, particularly in symptomatic patients.
7. Even CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B test was not validated using samples from asymptomatic contacts of cases, asymptomatic cases have been demonstrated to have viral loads similar to symptomatic cases, so CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B could detect as positive.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
2. CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B should be used only with nasopharyngeal swab samples. The use of swab specimens taken from other sites or the use of other samples such as saliva, sputum or urine has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper nasopharyngeal specimens must be obtained.
3. The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentration to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
4. Positive results determine the presence of SARS-CoV-2 and/or Influenza type A and/or Influenza type B antigens. A diagnosis of SARS-CoV-2, Influenza type A and Influenza type B infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
5. Positive results do not rule out co-infections with other pathogens.
6. Only VTM, UTM and Saline buffer transport media has been validated with CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B test. When using transport media the test sensitivity can be reduced due to excessive dilution of sample.
7. A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the nasopharyngeal samples is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, it is recommended that all negative results undergo confirmatory testing using other method and/or virus identification by cell culture, PCR or other technique.

EXPECTED VALUES

On January 30, 2020, the World Health Organization declared COVID-19 a public health emergency of international concern. Since the onset of the pandemic, SARS-CoV-2 has affected millions of people, causing thousands of victims worldwide.

Recent studies have shown that the primary viral infection found in symptomatic patients was identical to that seen in asymptomatic patients, suggesting that COVID-19 patients with asymptomatic infections are capable of transmitting SARS-CoV-2. During the incubation period, asymptomatic patients are also likely to transmit the virus to healthy people.

Although SARS-CoV-2 infection can affect people of any age, children and the elderly with asthma are in a higher risk category for the disease. Those with underlying health problems such as cancer, chronic respiratory diseases, cardiovascular diseases, and diabetes are also reported to have a higher chance of developing serious illnesses.

Yearly Influenza epidemics can seriously affect all age groups, but the highest risk of complications occur among children younger than age two, adults age 65 or older and people of any age with certain medical conditions, such as chronic heart, lung, kidney, liver, blood or metabolic diseases (such as diabetes) or weakened immune systems.



CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

Influenza affects between 20% and 30% of the United States population annually. Three fourths of the infected individuals develop an acute respiratory illness and one third of these seek medical attention. In a typical year, more than 20,000 to 40,000 Americans die and more than 100,000 are hospitalized because of complications related to influenza.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit value (typical) of CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (strip A: SARS-CoV-2) is 1.00 ng/mL of SARS-CoV-2 recombinant protein or 1×10^3 TCID₅₀/mL of 2019nCoV/USA-WA1/2020.

Detection limit value (typical) of CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (strip B: Influenza A) is 6.25 ng/mL of Influenza A recombinant nucleoprotein.

Detection limit value (typical) of CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (strip C: Influenza B) is 25.00 ng/mL of Influenza B recombinant nucleoprotein.

Clinical sensitivity and specificity

Evaluations for SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (strip A: SARS-CoV-2)

An evaluation, with nasopharyngeal samples from people suspected of infection by SARS-CoV-2 virus, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B, CerTest (SARS-CoV-2 strip) vs qPCR technique (VIASURE). The results were as follows:

IC test: CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (SARS-CoV-2)		qPCR technique		
		+	-	Total
+		26	1	27
-		2	233	235
Total		28	234	262

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (SARS-CoV-2) vs qPCR technique		
	Mean Value	95% confidence interval
Sensitivity (*)	92.9%	76.5–99.1%
Specificity	99.6%	97.6–100.0%
PPV	96.3%	81.0–99.9%
NPV	99.1%	97.0–99.9%

(*) Taking into account the recommendations for *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays* (11 September 2020) from the WHO, the sensitivity of the test was calculated with nasopharyngeal samples with high viral load (high viral loads is expected in early symptomatic phases of the illness (with the first 5-7 days of illness) in the range of Ag-RDT test detection).

Evaluations for SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (strip B: Influenza A)

Results showed in tables below have been obtained from several evaluations developed using an immunochromatographic (CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A), CerTest) and others commercial test kit.

1574 respiratory samples have been used for Influenza A evaluation (130 positive samples, 11 false positives, 1402 negatives samples and 31 false negatives). The results were as follows:

CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

	Evaluation number	True Positives	False Negatives	True Negatives	False Positives
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs XPECT FLU A&B (Remel)	I	7	0	85	1
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs Instand EQAS program (March 2016)	II	101	26	955	3
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs Binax NOW® Influenza A&B Card (Alere)	III	11	2	87	0
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs SD Bioline, Influenza Ag A/B/A (H1N1) (SD Bioline)	IV	1	0	97	0
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs MariPOC® respi (ArcDia International)	V	10	3	178	7
	Total	130	31	1402	11

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs other test used in evaluation (I, II, III, IV, V) for Influenza A		
	Mean Value	95% confidence interval
Sensitivity	80.7%	73.8 – 86.5%
Specificity	99.2%	98.6 – 99.6%
PPV	92.2%	86.5 – 96.0%
NPV	97.8%	96.9 – 98.5%

Evaluations for SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (strip C: Influenza B)

Results showed in tables below have been obtained from several evaluations developed using an immunochromatographic (CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B), CerTest) and others commercial test kit.

1276 respiratory samples have been used for Influenza B evaluation (75 positive samples, 6 false positives, 1181 negatives samples and 14 false negatives). The results were as follows:

	Evaluation number	True Positives	False Negatives	True Negatives	False Positives
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs XPECT FLU A&B (Remel)	I	7	2	83	1
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs Instand EQAS program (March 2016)	II	63	12	1005	5
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs SD Bioline, Influenza Ag A/B/A (H1N1) (SD Bioline)	III	5	0	93	0
	Total	75	14	1181	6

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs other test used in evaluation (I, II, III) for Influenza B		
	Mean Value	95% confidence interval
Sensitivity	84.3%	75.0 – 91.1%
Specificity	99.5%	98.9 – 99.8%
PPV	92.6%	84.6 – 97.2%
NPV	98.8%	98.0 – 99.4%



CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

The results showed a high sensitivity and specificity to detect SARS-CoV-2, Influenza type A and type B using CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B.

Hook Effect

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B test does not show inhibitory hook effect at concentration higher than 100,000xLoD for Strip A: SARS-CoV-2, at concentrations higher than 30,000xLoD for Strip B: Influenza A and at concentrations higher than 8,000xLoD for Strip C: Influenza B.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest SARS-CoV-2+Flu A + Flu B; no cross reactivity against organisms, pathogens, substances that cause infections:

For Strip A. SARS-CoV-2

Adenovirus	Entamoeba histolytica	Legionella pneumophila	Salmonella typhimurium
Astrovirus	Escherichia coli O157	Listeria monocytogenes	Shigella boydii
Bovine Haemoglobin	Giardia	Norovirus GI	Shigella dysenteriae
Campylobacter jejuni	Helicobacter pylori	Norovirus GII	Shigella flexneri
Clostridium difficile antigen GDH	Human Calprotectin	Pig Haemoglobin	Shigella sonnei
Clostridium difficile Toxin A	Human Haemoglobin	Rotavirus	Streptococcus pneumococcal
Clostridium difficile Toxin B	Human Lactoferrin	Respiratory Syncytial Virus	Streptococcus pyogenes
Coronavirus strain 229E	Human Transferrin	Salmonella enteritidis	Yersinia Enterocolitica O:3
Coronavirus strain NL63	Influenza type A	Salmonella paratyphi A	Yersinia Enterocolitica O:9
Coronavirus strain OC43	Influenza type B	Salmonella typhi	

CerTest SARS-CoV-2+Flu A + Flu B (SARS-CoV-2, strip A) showed some cross reaction with SARS and very low with MERS.

For Strip B. Influenza A

Adenovirus	Coronavirus strain OC43	Legionella pneumophila	Salmonella typhi
Astrovirus	Entamoeba histolytica	Listeria monocytogenes	Salmonella typhimurium
Bovine Haemoglobin	Escherichia coli O157	MERS	Shigella boydii
Campylobacter jejuni	Giardia	Norovirus GI	Shigella dysenteriae
Clostridium difficile antigen GDH	Helicobacter pylori	Norovirus GII	Shigella flexneri
Clostridium difficile Toxin A	Human Calprotectin	Pig Haemoglobin	Shigella sonnei
Clostridium difficile Toxin B	Human Haemoglobin	Rotavirus	Streptococcus pneumococcal
Coronavirus SARS-1 (SARS)	Human Lactoferrin	Respiratory Syncytial Virus	Streptococcus pyogenes
Coronavirus SARS-2 (SARS-CoV-2)	Human Transferrin	Salmonella enteritidis	Yersinia Enterocolitica O:3
Coronavirus strain 229E	Influenza type B	Salmonella paratyphi A	Yersinia Enterocolitica O:9
Coronavirus strain NL63			

For Strip C. Influenza B

Adenovirus	Coronavirus strain OC43	Legionella pneumophila	Salmonella typhi
Astrovirus	Entamoeba histolytica	Listeria monocytogenes	Salmonella typhimurium
Bovine Haemoglobin	Escherichia coli O157	MERS	Shigella boydii
Campylobacter jejuni	Giardia	Norovirus GI	Shigella dysenteriae
Clostridium difficile antigen GDH	Helicobacter pylori	Norovirus GII	Shigella flexneri
Clostridium difficile Toxin A	Human Calprotectin	Pig Haemoglobin	Shigella sonnei
Clostridium difficile Toxin B	Human Haemoglobin	Rotavirus	Streptococcus pneumococcal
Coronavirus SARS-1 (SARS)	Human Lactoferrin	Respiratory Syncytial Virus	Streptococcus pyogenes
Coronavirus SARS-2 (SARS-CoV-2)	Human Transferrin	Salmonella enteritidis	Yersinia Enterocolitica O:3
Coronavirus strain 229E	Influenza type A	Salmonella paratyphi A	Yersinia Enterocolitica O:9
Coronavirus strain NL63			



CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

Interferences

An evaluation was performed to determine the possible interferences of CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B; no interferences against the substances tested were detected:

Potencial interfering substance	Concentration	Result	Potencial interfering substance	Concentration	Result
Metronidazole	3.0 mg/mL	Negative	Loperamide hydrochloride (<i>Fortasec</i>)	$1.5 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Negative
Ampicillin	3.0 mg/mL	Negative	Heparin (<i>Hibor</i>)	350.0 IU/mL	Negative
Oseltamivir	$3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Negative	Almagato (<i>Almax</i>)	3.0 mg/mL	Negative
Amantadine	0.3 mg/mL	Negative	Fosfamycin (<i>Monurol</i>)	$3.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	Negative
Ribavirin	3.0 mg/mL	Negative	Acetylcysteine (<i>Fluimucil</i>)	$3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Negative
Codeine (<i>Toseina</i>)	0.2 mg/mL	Negative	Dexketoprofen trometamol (<i>Enantyum</i>)	0.3 mg/mL	Negative
Benzocaine (<i>Angileptol</i>)	$3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Negative	Levofloxacin	$3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Negative
Cloperastine (<i>Flutox</i>)	0.3 mg/mL	Negative	Ciprofloxacin	0.3 mg/mL	Negative
Carbocysteine (<i>Iniston mucolítico</i>)	$3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Negative	Rifampicin (<i>Rifaldin</i>)	0.3 mg/mL	Negative
Loratadine	0.3 mg/mL	Negative	Phenoxymethylpenicillin potassium	3.0 mg/mL	Negative
Dexchloropheniramine (<i>Polaramine</i>)	0.3 mg/mL	Negative	Ambroxol hydrochloride (<i>Mucosan</i>)	0.3 mg/mL	Negative
Ebastine (<i>Ebastel</i>)	3.0 mg/mL	Negative	Macrogol 3350 (<i>Movicol</i>)	3.0 mg/mL	Negative
Acetyl Salicylic (<i>Adiro</i>)	0.3 mg/mL	Negative	Lysine Carbocysteinate (<i>Pectox</i>)	$3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Negative
Ibuprofen (<i>Espidifen</i>)	0.3 mg/mL	Negative	Hydroxyzine dihydrochloride	0.3 mg/mL	Negative
Paracetamol (<i>Dolocatil</i>)	5.0 mg/mL	Negative	Lorazepam	$3.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	Negative
Metamizole (<i>Nolotil</i>)	5.0 mg/mL	Negative	Amoxicillin	3.0 mg/mL	Negative
Prednisone	0.3 mg/mL	Negative	Mercaptopurine	0.3 mg/mL	Negative
Omeprazole	$2.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	Negative			

ESPAÑOL**USO PREVISTO**

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de antígenos de nucleoproteína de SARS-CoV-2, Influenza tipo A y tipo B a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos procedentes de pacientes sospechosos de infección por COVID-19 y/o Influenza A y/o Influenza B.

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad como ayuda en el diagnóstico de infección causada por SARS-CoV-2 e Influenza tipo A y B.

INTRODUCCIÓN

Una neumonía invisible se propagó rápidamente en Wuhan, China, en diciembre de 2019. Los científicos secuenciaron y reconocieron un nuevo coronavirus β . La enfermedad, causada por el virus corona del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2), se denomina enfermedad de coronavirus 2019 (COVID-19).

Los coronavirus (CoV) son ARN, virus envueltos, con un genoma grande (29,9 kb), entre los que los β -CoV y α -CoV pueden infectar a los mamíferos. Los virus que pertenecen a la familia Coronaviridae tienen la proteína de membrana (M) más abundante entre otras proteínas, es decir, la glicoproteína de pico (S), la proteína de la nucleocápside (N) y una proteína de la envoltura (E). La glicoproteína de pico (S) es uno de los objetivos de la respuesta de las células T en el sistema inmunológico. La proteína S también promueve la unión de la envoltura del virus al receptor ACE2 y la entrada del virus en la célula diana. Los receptores ACE2 están presentes en las células de las arterias, venas, músculos lisos, intestino delgado, alvéolos de los pulmones, folículos pilosos, miofibroblastos cardíacos, piel, cerebro y riñón, por lo que el SARS-CoV-2 podría potencialmente infectar estos tejidos.

Las formas clínicas de esta enfermedad comprenden desde síntomas leves hasta muy graves: la neumonía, la fiebre y los síntomas respiratorios son los más frecuentes. Otros síntomas de la infección viral incluyen dolor de garganta, molestias, dolores y dificultad para respirar. En algunos casos, también se presenta secreción nasal, náuseas y diarrea.

El brote de coronavirus recién descubierto comienza principalmente a través de secreciones nasales o gotitas de saliva, una vez que un individuo infectado estornuda o tose, y el tiempo estimado de incubación es de 2 semanas. Debido a la alta tasa de infección del SARS-CoV-2, la detección de pacientes positivos asintomáticos es probablemente uno de los puntos clave para controlar el brote.

La gripe está causada por un virus (Influenza) que ataca principalmente el tracto respiratorio superior-nariz, garganta y bronquios y también aunque más raramente a los pulmones. La infección normalmente dura una semana. Está caracterizada en su inicio por fiebre elevada, mialgia, dolores de cabeza y gran malestar, tos no productiva, dolor de garganta y rinitis. La mayoría de la gente se recupera en una o dos semanas sin requerir ningún tratamiento médico. Para los niños, ancianos y personas que padecen afecciones pulmonares, diabetes, cáncer, afecciones de riñón o problemas de corazón, Influenza puede ocasionar un riesgo serio. En estas personas esta infección puede provocar graves complicaciones de otras enfermedades, neumonía y muerte.

Normalmente los virus de Influenza que causan enfermedad en humanos se dividen en dos grupos: A y B. Influenza A tienen 2 subtipos que son importantes para humanos: A (H3N2) y A (H1N1), de los cuales el primero es el que está directamente asociado a la mayor parte de las muertes. Los virus de Influenza se caracterizan por 2 componentes proteicos diferentes, conocidos como antígenos, localizados en la superficie del virus, llamados hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N).

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de antígenos de nucleoproteína de SARS-CoV-2, Influenza tipo A y tipo B a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos procedentes de pacientes sospechosos de infección por COVID-19 y/o Influenza A y/o Influenza B.

Tira A consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a SARS-CoV-2 en la línea de test (T) en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test con anticuerpos monoclonales de ratón frente a SARS-CoV-2 conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira B consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Influenza tipo A en la línea de test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se han dispensado una preparación de reactivos para la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a Influenza tipo A) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira C consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Influenza* tipo B en la línea de test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se han dispensado una preparación de reactivos para la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Influenza* tipo B) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es SARS-CoV-2 positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-microesferas rojas de látex) en la tira A, si la muestra es *Influenza A* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Influenza* tipo A-microesferas rojas de látex) en la tira B, y si la muestra es *Influenza B* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Influenza* tipo B-microesferas rojas de látex) en la tira C, los cuales han sido secados previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presentes en la membrana de la tira A (línea de test), anti-*Influenza* tipo A presentes en la membrana de la tira B (línea de test) y los anticuerpos anti-*Influenza* tipo B presentes en la membrana de la tira C (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y una línea roja aparecerá en las tiras. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de SARS-CoV-2 ni de *Influenza* tipo A ni de *Influenza* tipo B o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2, *Influenza* tipo A y anti-*Influenza* tipo B presentes en las membranas (líneas de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerán las líneas rojas.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, en ambas tiras, la mezcla continuará moviéndose a través de las membranas hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en las líneas de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en ambas membranas capturarán el complejo conjugado de control y las líneas de control verdes siempre aparecerán. La aparición de estas líneas se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada una de las muestras para evitar errores de contaminación. Por favor, recuerde que la infección por COVID-19 es muy peligrosa.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Limpiar los posibles derrames con un desinfectante adecuado.
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Los hisopos estériles suministrados en los kits deben ser usados solamente para la toma de muestra nasofaríngea. No pueden reutilizarse.
- No tocar la cabeza del hisopo estéril suministrado cuando se saque de su envase primario para evitar contaminación.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona línea de control y zona línea de test), antes de utilizar el test, es completamente normal y no supone fallo de funcionalidad del test.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.
- Todos los resultados positivos deberían procesarse siguiendo las leyes y regulaciones locales.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

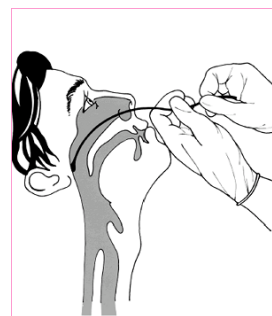
Las muestras deben ser procesadas lo más pronto posible tras su recolección. Si esto no fuera posible las muestras pueden ser almacenadas en el frigorífico (2-8°C) durante 8 horas antes de realizar la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

Método de hisopo nasofaríngeo:

1. Sacar el hisopo de su envase.
2. Tomar la muestra con un hisopo estéril a partir de un orificio nasal.
3. Introducir el hisopo dentro del orificio hacia la nasofaringe, rotando contra la pared.
(asegurarse de que el hisopo contenga células, así como mocos).
4. Repetir el procedimiento con el otro orificio nasal.
5. Procesar el hisopo tan pronto como sea posible tras la recolección de la muestra.

Seguir apartado de Procedimiento.



Toma de muestra

Muestras nasofaríngeas previamente extraídas en medio de transporte:

Incluso cuando el uso de muestras directas de hisopo nasofaríngeo es el protocolo preferido a seguir, el test puede ser utilizado con hisopos de muestras nasofaríngeas previamente diluidas en medios de transporte como: VTM, UTM o Bufer salino.

1. Utilizar el mínimo volumen de medio de transporte para evitar pérdidas en la sensibilidad. Ejemplo: 1.0 mL. El uso de mayores volúmenes afecta a la sensibilidad del sistema.
2. Diluir las muestras extraídas 1:1 en el reactivo SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (diluyente de muestra) suministrado en el kit.

Seguir inmediatamente con el punto 3 del apartado de Procedimiento

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card tests
- Reactivo SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card tests (diluyente de muestra)
- Hisopos
- Pipetas desechables
- Tubos de ensayo
- Instrucciones de uso
- Gradilla de laboratorio
- Hisopo CerTest SARS-CoV-2 Positive Control + Instrucciones de uso
- Hisopo CerTest Influenza A Positive Control + instrucciones de uso
- Hisopo CerTest Influenza B Positive Control + instrucciones de uso

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

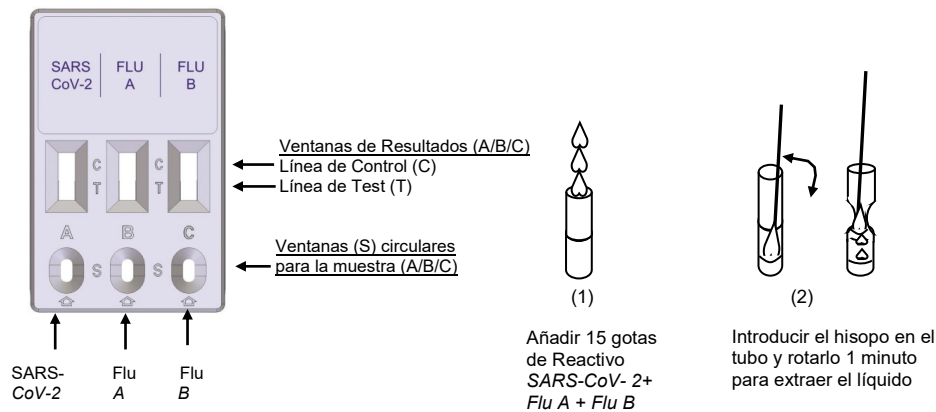
Previamente los tests, las muestras y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

1. Añadir 15 gotas (aprox. 500µL) (1) del Reactivo SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B y poner inmediatamente el hisopo dentro del tubo.
2. Agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos 1 minuto. Se obtendrán mejores resultados si la muestra es extraída de forma vigorosa (2). Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionándolo contra las paredes del tubo hasta que el hisopo quede seco. Tirar el hisopo.
3. Sacar el test CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B de su envase en el momento antes de utilizarlo.
4. Usar una pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar 3 gotas (aprox. 120µL) a partir del tubo de ensayo, en la ventana circular marcada con la letra A (3), dispensar 3 gotas (aprox. 120µL), usando el mismo tubo, en la ventana circular marcada con la letra B (4), y dispensar 3 gotas (aprox. 120µL), usando el mismo tubo, en la ventana circular marcada con la letra C (5).
5. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido al tipo de muestra, agitar con la pipeta la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de Reactivo SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.

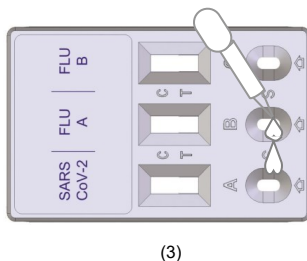
CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette



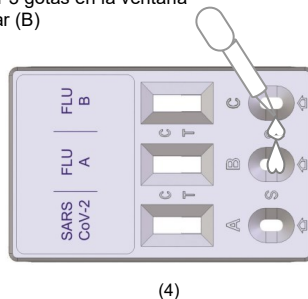
Procedimiento para la tira A de SARS-CoV-2

Añadir 3 gotas en la ventana circular (A)



Procedimiento para la tira B de Influenza tipo A

Añadir 3 gotas en la ventana circular (B)

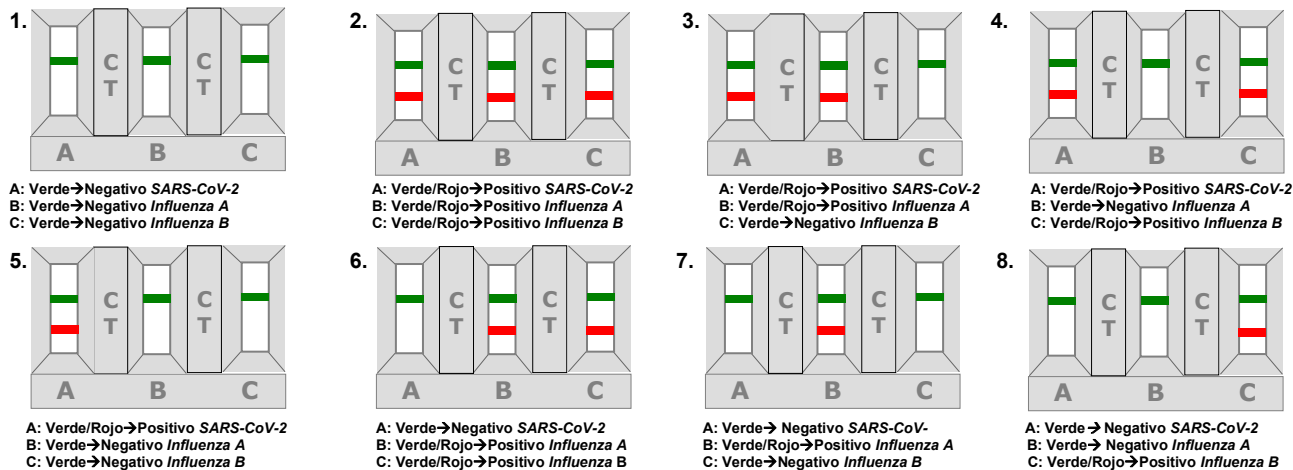


Procedimiento para la tira C de Influenza tipo B

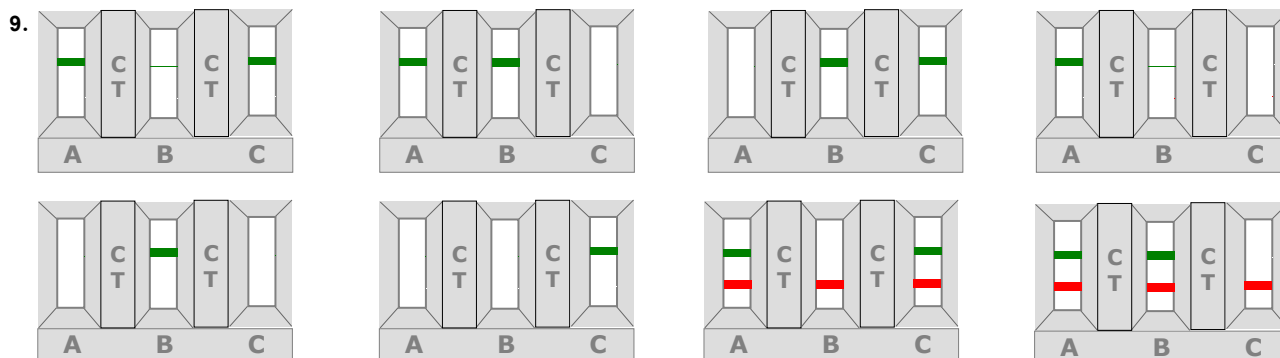
Añadir 3 gotas en la ventana circular (C)



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)

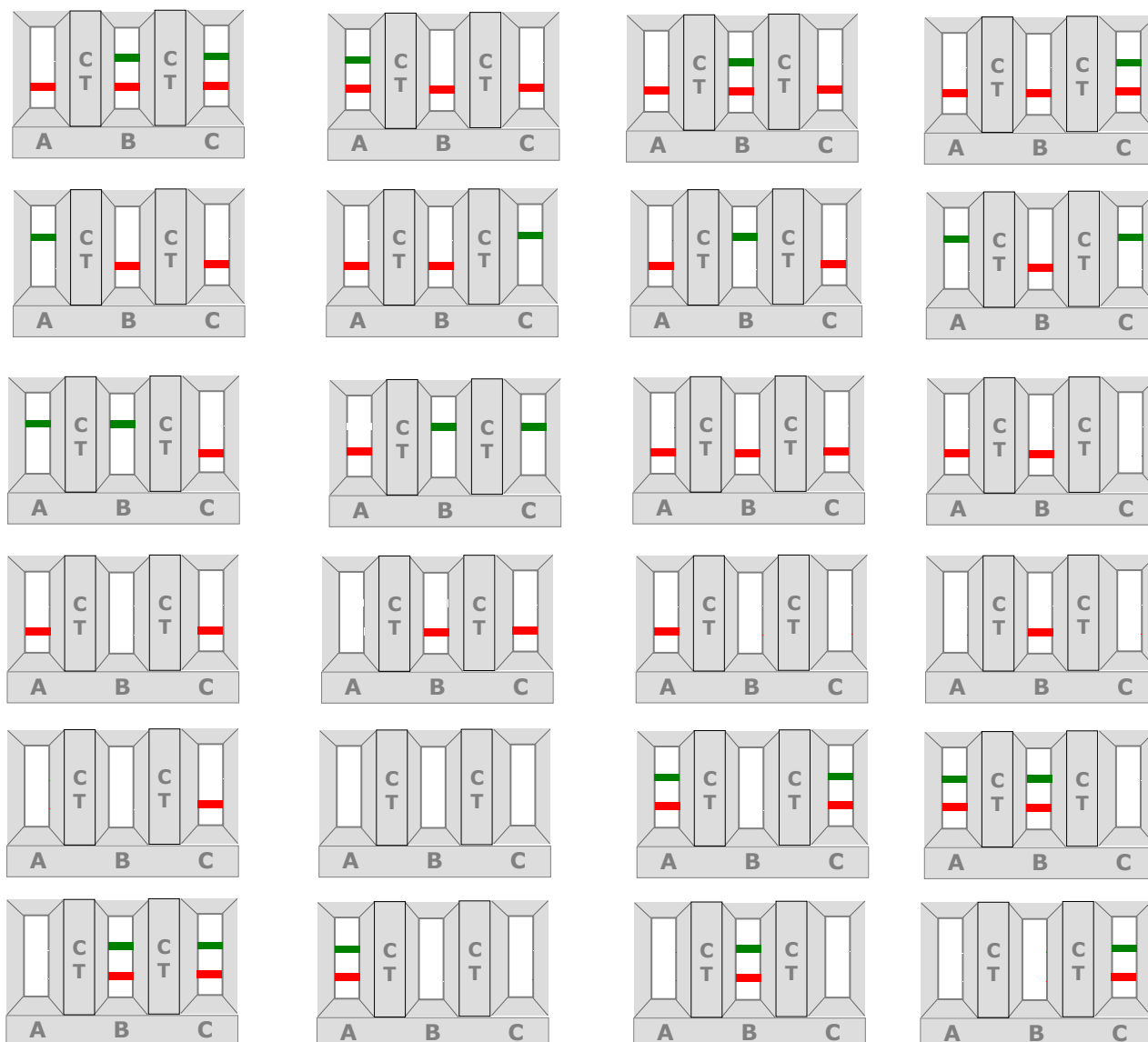


RESULTADOS INVÁLIDOS



CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette



	A (SARS-CoV-2)	B (Influenza A)	C (Influenza B)	Interpretación de los resultados
1.	- VERDE	- VERDE	- VERDE	No hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2 ni de <i>Influenza</i> tipo A ni de <i>Influenza</i> tipo B en la muestra.
2.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2, <i>Influenza</i> tipo A e <i>Influenza</i> tipo B en la muestra.
3.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	- VERDE-ROJO	Hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2 e <i>Influenza</i> tipo A en la muestra. No hay presencia de antígeno de <i>Influenza</i> tipo B en la muestra.
4.	+ VERDE-ROJO	- VERDE-ROJO	+ VERDE	Hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2 e <i>Influenza</i> tipo B en la muestra. No hay presencia de antígeno de <i>Influenza</i> tipo A en la muestra.
5.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	- VERDE-ROJO	Hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2 en la muestra. No hay presencia de antígeno de <i>Influenza</i> tipo A y tipo B en la muestra.
6.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	+ VERDE	Hay presencia de antígeno de <i>Influenza</i> tipo A y tipo B en la muestra. No

CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

	VERDE	VERDE-ROJO	VERDE-ROJO	hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2 en la muestra.
7.	-	+	-	Hay presencia de antígeno de <i>Influenza</i> tipo A en la muestra. No hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2 e <i>Influenza</i> tipo B en la muestra.
	VERDE-ROJO	VERDE-ROJO	VERDE	
8.	-	-	+	Hay presencia de antígeno de <i>Influenza</i> tipo B en la muestra. No hay presencia de antígeno de SARS-CoV-2 e <i>Influenza</i> tipo A en la muestra.
	VERDE	VERDE	VERDE-ROJO	
9.	Cualquier resultado inválido en A, en B o en C: se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.			

La aparición de cualquiera de los resultados del 2 al 16 de esta tabla, debe ser evaluado con otra prueba confirmatoria.

Cualquiera de los resultados entre el 2 y el 6 no son muy comunes. Las infecciones respiratorias dobles simultáneas son más frecuentes que las triples o cuádruples víricas.

INVÁLIDO: Cuando las líneas de control (VERDE) no aparecen, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisar el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de las líneas de color rojo en las líneas de test (T) en las ventanas de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos de funcionamiento vienen incluidos en la prueba. Las líneas verdes que aparecen en las zonas de las líneas de control (C) en las ventanas de resultados son los controles internos del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

RECOMENDACIONES

Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) con respecto al uso de detección de antígenos para SARS-CoV-2: *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays- 11 September 2020.*

1. Para optimizar el rendimiento de la prueba, éstas se deben realizar por personal entrenado y deben ser realizadas siguiendo estrictamente el procedimiento del test y dentro de los 5-7 días posteriores al inicio de los síntomas.
2. Siempre que sea posible, las muestras positivas que den resultados positivos deben enviarse a laboratorios con capacidad para realizar test de amplificación de ácido nucleico (TAAN) para su confirmación.
3. Esta prueba podría usarse para detección de individuos en riesgo y aislar rápidamente casos positivos en brotes de COVID-19 confirmados por técnicas de amplificación de ácido nucleico.
4. Para monitorear la tendencia en incidencia de enfermedad en comunidades.
5. Para la detección temprana y aislamiento de casos positivos en los centros de salud, donde existe una transmisión comunitaria generalizada.
6. Un resultado negativo no puede excluir por completo una infección activa por COVID-19, siempre que sea posible, se debe repetir el test o preferiblemente realizar la prueba de amplificación de ácido nucleico, especialmente en pacientes asintomáticos.
7. Aunque la prueba CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B no fue validada usando muestras de personas asintomáticas, se ha demostrado que los casos asintomáticos tienen cargas virales similares a los casos sintomáticos, por lo que CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B podría detectarlos como positivos.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
2. CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B debería utilizarse sólo con muestras de hisopos nasofaríngeos. El uso de muestras tomadas de otros sitios o el uso de otras muestras como saliva, esputos u orina no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras nasofaríngeas.
3. La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.

4. Los resultados positivos determinan la presencia de antígenos de SARS-CoV-2 y/o Influenza tipo A y/o tipo B. Un diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, Influenza tipo A y tipo B debería evaluarse por un especialista considerando todos los hallazgos clínicos y de laboratorio basándose en la correlación entre estos resultados y las observaciones clínicas.
5. Los resultados positivos del test no descartan co-infecciones con otro patógenos.
6. Solamente los medios de transporte: VTM, UTM y buffer salino han sido validados con CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B test, la utilización de los medios de transporte puede reducir la sensibilidad del test por la dilución excesiva de muestra.
7. Un resultado negativo no se puede considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en muestras nasofaríngeas sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, se recomienda que los resultados negativos se confirmen mediante otro método y/o identificación del virus por cultivo celular, PCR u otra técnica.

VALORES ESPERADOS

El 30 de enero de 2020, la Organización Mundial de la Salud declaró al COVID-19 una emergencia de salud pública de importancia internacional. Desde el inicio de la pandemia, el SARS-CoV-2 ha afectado a millones de personas y ha causado miles de víctimas en todo el mundo.

Estudios recientes han demostrado que la infección viral primaria encontrada en pacientes sintomáticos fue idéntica a la observada en pacientes asintomáticos, lo que sugiere que los pacientes con COVID-19 con infecciones asintomáticas son capaces de transmitir SARS-CoV-2. Durante el período de incubación, los pacientes asintomáticos también pueden transmitir el virus a personas sanas.

Aunque la infección por SARS-CoV-2 puede afectar a personas de cualquier edad, los niños y los ancianos con asma se encuentran en una categoría de mayor riesgo de contraer la enfermedad. Aquellos con problemas de salud subyacentes como cáncer, enfermedades respiratorias crónicas, enfermedades cardiovasculares y diabetes también tienen una mayor probabilidad de desarrollar enfermedades graves.

Las epidemias de gripe se repiten anualmente y pueden afectar a personas de todas las edades, aunque existe un alto riesgo de aparición de complicaciones en niños menores de dos años y adultos a partir de 65 años. Este riesgo existe también en personas de cualquier edad que presenten ciertos problemas de salud, tales como enfermedades crónicas de corazón, pulmón, riñón, hígado, sangre o enfermedades metabólicas (por ejemplo, diabetes) o en personas inmunocomprometidas.

La gripe afecta anualmente entre un 20 y un 30% de la población de EE.UU. Tres cuartas partes de los individuos desarrollan una enfermedad respiratoria aguda y una tercera parte requiere atención médica. Cualquier año, entre 20000 y 40000 americanos muere y más de 100000 son hospitalizados a causa de complicaciones relacionadas con esta enfermedad.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección (típico) de CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (tira A: SARS-CoV-2) es 1.00 ng/mL de proteína recombinante de SARS-CoV-2 o 1×10^3 TCID₅₀/mL con 2019nCoV/USA-WA1/2020.

El límite de detección (típico) de CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (tira B: Influenza A) es 6.25 ng/mL de nucleoproteína recombinante de Influenza A.

El límite de detección (típico) de CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (tira C: Influenza B) es 25 ng/mL de nucleoproteína recombinante de Influenza B.

Sensibilidad y especificidad clínica

Evaluaciones de SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (tira A: SARS-CoV-2)

Una evaluación, con muestras nasofaríngeas de personas sospechosas de infección por el virus SARS-CoV-2, se llevó a cabo comparando los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico (CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B, CerTest (tira A: SARS-CoV-2)) frente a técnica qPCR (VIASURE). Los resultados se muestran a continuación:

		Técnica PCR		
		+	-	Total
IC test: CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (SARS-CoV-2)	+	26	1	27
	-	2	233	235
	Total	28	234	262

CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (SARS-CoV-2) vs técnica qPCR		
	Valor Medio	95% intervalo de confianza
Sensibilidad(*)	92.9%	76.5–99.1%
Especificidad	99.6%	97.6–100.0%
VPP	96.3%	81.0–99.9%
VPN	99.1%	97.0–99.9%

(*) Teniendo en cuenta las recomendaciones de la OMS *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays (11 September 2020)*, la sensibilidad del test fue calculada con muestras nasofaríngeas con alta carga viral (la carga viral alta se espera en las primeras fases en las que aparecen síntomas de la enfermedad (en los 5-7 primeros días de enfermedad) en el rango de detección de los Ag -RDT).

Evaluaciones de SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (tira B: Influenza A)

Los resultados mostrados en las siguientes tablas han sido obtenidos de diferentes evaluaciones desarrolladas usando un test inmunocromatográfico (CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A), CerTest) y otros kits comerciales.

1574 muestras respiratorias han sido usadas para la evaluación de Influenza A (130 muestras positivas, 11 falsos positivos, 1402 muestras negativas, 31 falsos negativos). Los resultados se muestran a continuación:

	Número de evaluación	Verdaderos positivos	Falsos negativos	Verdaderos negativos	Falsos positivos
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs XPECT FLU A&B (Remel)	I	7	0	85	1
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs Instand EQAS program (March 2016)	II	101	26	955	3
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs Binax NOW® Influenza A&B Card (Alere)	III	11	2	87	0
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs SD Bioline, Influenza Ag A/B/A (H1N1) (SD Bioline)	IV	1	0	97	0
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs MariPOC® respi (ArcDia International)	V	10	3	178	7
	Total	130	31	1402	11

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza A) vs otros test utilizados en la evaluación (I, II, III, IV, V) para Influenza A		
	Valor Medio	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	80.7%	73.8 – 86.5%
Especificidad	99.2%	98.6 – 99.6%
VPP	92.2%	86.5 – 96.0%
VPN	97.8%	96.9 – 98.5%

Evaluaciones de SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (tira C: Influenza B)

Los resultados mostrados en las siguientes tablas han sido obtenidos de diferentes evaluaciones desarrolladas usando un test inmunocromatográfico (CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B), CerTest) y otros kits comerciales.

1276 muestras respiratorias han sido usadas para la evaluación de Influenza B (75 muestras positivas, 6 falsos positivos, 1181 muestras negativas 14 falsos negativos). Los resultados se muestran a continuación:

	Número de evaluación	Verdaderos positivos	Falsos negativos	Verdaderos negativos	Falsos positivos
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs XPECT FLU A&B (Remel)	I	7	2	83	1
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs Instand EQAS program (March 2016)	II	63	12	1005	5
CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs SD Bioline, Influenza Ag A/B/A (H1N1) (SD Bioline)	III	5	0	93	0
	Total	75	14	1181	6

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (Influenza B) vs otros test utilizados en la evaluación (I, II, III) para Influenza B		
	Valor Medio	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	84.3%	75.0 – 91.1%
Especificidad	99.5%	98.9 – 99.8%
VPP	92.6%	84.6 – 97.2%
VPN	98.8%	98.0 – 99.4%

Los resultados mostraron que CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar SARS-CoV-2 e Influenza tipo A y tipo B.

Efecto Hook

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B test no mostró efecto Hook inhibitorio a concentraciones mayores de 100,000xLoD para la tira A: SARS-CoV-2 ni a concentraciones mayores de 30,000xLoD para la tira B: Influenza A ni a concentraciones mayores de 8,000xLoD para la tira C: Influenza B.

Reacciones cruzadas

Se llevó a cabo una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de test CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B; no se detectó reacción cruzada con organismos, patógenos, sustancias que podrían causar infecciones:

Para tira A. SARS-CoV-2

Adenovirus	Entamoeba histolytica	Legionella pneumophila	Shigella dysenteriae
Astrovirus	Escherichia coli O157	Listeria monocytogenes	Shigella flexneri
Calprotectina humana	Giardia	Norovirus GI	Shigella sonnei
Campylobacter jejuni	Helicobacter pylori	Norovirus GII	Streptococcus pneumococcal
Clostridium difficile antigen GDH	Hemoglobina bovina	Rotavirus	Streptococcus pyogenes
Clostridium difficile Toxin A	Hemoglobina de cerdo	Salmonella enteritidis	Transferrina humana
Clostridium difficile Toxin B	Hemoglobina humana	Salmonella paratyphi A	Virus Respiratorio Sincitial
Coronavirus strain 229E	Influenza tipo A	Salmonella typhi	Yersinia Enterocolitica O:3
Coronavirus strain NL63	Influenza tipo B	Salmonella typhimurium	Yersinia Enterocolitica O:9
Coronavirus strain OC43	Lactoferrina humana	Shigella boydii	

CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (SARS-CoV-2, tira A) muestra algo de reacción cruzada con SARS y muy baja con MERS.

CERTEST SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B

One Step test to detect SARS-CoV-2, Influenza A and Influenza B antigens in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B antígenos en formato cassette

Para tira B. Influenza A

Adenovirus	Coronavirus strain OC43	Legionella pneumophila	Shigella boydii
Astrovirus	Entamoeba histolytica	Listeria monocytogenes	Shigella dysenteriae
Calprotectina humana	Escherichia coli O157	MERS	Shigella flexneri
Campylobacter jejuni	Giardia	Norovirus GI	Shigella sonnei
Clostridium difficile antigen GDH	Helicobacter pylori	Norovirus GII	Streptococcus pneumococcal
Clostridium difficile Toxin A	Hemoglobina bovina	Rotavirus	Streptococcus pyogenes
Clostridium difficile Toxin B	Hemoglobina de cerdo	Salmonella enteritidis	Transferrina humana
SARS-CoV-1 (SARS)	Hemoglobina humana	Salmonella paratyphi A	Virus Respiratorio Sincitial
SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2)	Influenza tipo B	Salmonella typhi	Yersinia Enterocolitica O:3
Coronavirus strain 229E	Lactoferrina humana	Salmonella typhimurium	Yersinia Enterocolitica O:9
Coronavirus strain NL63			

Para tira C. Influenza B

Adenovirus	Coronavirus strain OC43	Legionella pneumophila	Salmonella typhi
Astrovirus	Entamoeba histolytica	Listeria monocytogenes	Salmonella typhimurium
Bovine Haemoglobin	Escherichia coli O157	MERS	Shigella boydii
Campylobacter jejuni	Giardia	Norovirus GI	Shigella dysenteriae
Clostridium difficile antigen GDH	Helicobacter pylori	Norovirus GII	Shigella flexneri
Clostridium difficile Toxin A	Human Calprotectin	Pig Haemoglobin	Shigella sonnei
Clostridium difficile Toxin B	Human Haemoglobin	Rotavirus	Streptococcus pneumococcal
Coronavirus SARS-1 (SARS)	Human Lactoferrin	Respiratory Syncytial Virus	Streptococcus pyogenes
Coronavirus SARS-2 (SARS-CoV-2)	Human Transferrin	Salmonella enteritidis	Yersinia Enterocolitica O:3
Coronavirus strain 229E	Influenza tipo A	Salmonella paratyphi A	Yersinia Enterocolitica O:9
Coronavirus strain NL63			

Interferencias

Se llevo a cabo una evaluación para determinar posibles interferencias de CerTest SARS-CoV-2 + Flu A; no se detectó interferencia con ninguna de las sustancias probadas:

Potencial sustancia interferente	Concentración	Resultados	Potencial sustancia interferente	Concentración	Resultados
Metronidazole	3.0 mg/mL	Negativo	Loperamide hydrochloride (Fortasec)	1.5·10 ⁻² mg/mL	Negativo
Ampicillin	3.0 mg/mL	Negativo	Heparin (Hibor)	350.0 IU/mL	Negativo
Oseltamivir	3.0·10 ⁻² mg/mL	Negativo	Almagato (Almax)	3.0 mg/mL	Negativo
Amantadine	0.3 mg/mL	Negativo	Fosfomycin (Monurol)	3.0·10 ⁻³ mg/mL	Negativo
Ribavirin	3.0 mg/mL	Negativo	Acetylcysteine (Fluimucil)	3.0·10 ⁻² mg/mL	Negativo
Codeine (Toseina)	0.2 mg/mL	Negativo	Dexketoprofen trometamol (Enantyum)	0.3 mg/mL	Negativo
Benzocaine (Angileptol)	3.0·10 ⁻² mg/mL	Negativo	Levofloxacin	3.0·10 ⁻² mg/mL	Negativo
Cloperastine (Flutox)	0.3 mg/mL	Negativo	Ciprofloxacin	0.3 mg/mL	Negativo
Carbocisteine (Iniston mucolítico)	3.0·10 ⁻² mg/mL	Negativo	Rifampicin (Rifaldin)	0.3 mg/mL	Negativo
Loratadine	0.3 mg/mL	Negativo	Phenoxymethylpenicillin potassium	3.0 mg/mL	Negativo
Dexchlorpheniramine (Polaramine)	0.3 mg/mL	Negativo	Ambroxol hydrochloride (Mucosan)	0.3 mg/mL	Negativo
Ebastine (Ebastel)	3.0 mg/mL	Negativo	Macrogol 3350 (Movicol)	3.0 mg/mL	Negativo
Acetyl Salicylic (Adiro)	0.3 mg/mL	Negativo	Lysine Carbocysteinate (Pectox)	3.0·10 ⁻² mg/mL	Negativo
Ibuprofen (Espanidifen)	0.3 mg/mL	Negativo	Hydroxyzine dihydrochloride	0.3 mg/mL	Negativo
Paracetamol (Dolocatil)	5.0 mg/mL	Negativo	Lorazepam	3.0·10 ⁻³ mg/mL	Negativo
Metamizole (Nolotil)	5.0 mg/mL	Negativo	Amoxicillin	3.0 mg/mL	Negativo
Prednisone	0.3 mg/mL	Negativo	Mercaptopurine	0.3 mg/mL	Negativo
Omeprazole	2.0·10 ⁻³ mg/mL	Negativo			

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. Palestino, G.; García-Silva, I.; González-Ortega, O. and Rosales-Mendoza, S. **Can nanotechnology help in the fight against COVID-19?** *Expert Review of Anti-infective Therapy*. <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1776115>. Jun. 2020.
2. Moeis MR.; Rahayu AP.; Ihsani N. and Pertiwi W. **Coronavirus-SARS-CoV-2: Biology and Problems in rRT-PCR Detection**. *Borneo Journal of Pharmacy*. Vol. 3; special Issue 1:136-145. Jun. 2020. <https://doi.org/10.33084/bjop.v3iSpecial-1.1429>
3. Arnedo-Pena, A.; Sabater-Vidal, S.; Meseguer-Ferrer, N.; Pac-Sa, M. R.; Mañes-Flor, P.; Gascó-Laborda, J. C.; Larrea, R. M.; Tirado-Balaguer, M. D.; Romeu-García, M. A.; Gil-Fortuño, M.; Safont-Adsua, L.; Blasco, A.; Gomila-Sar, B.; Moreno-Muñoz, M. R. and Bellido-Blasco, J. **COVID-19 secondary attack rate and risk factors in household contacts in Castellon (Spain): Preliminary report**. *Revista Enfermedades Emergentes*. 2020;19(2):64-70.
4. Younes, N.; Al-Sadeq, D. W.; AL-Jighefee, H.; Younes, S.; Al-Jamal, O.; Daas, H. I.; Yassine, H. M. and Nasrallah, G. K. **Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2**. *Viruses (Multidisciplinary Digital Publishing Institute)*. 12 (6): 582. <https://doi.org/10.3390/v12060582>. May. 2020.
5. Rincón, A.; Moreso, F.; López-Herradón, A.; Fernández-Robres, M.A.; Cidraque, I.; Nin, J.; Méndez, O.; López, M.; Pájaro, C.; Satorra, A.; Stuard, S. and Ramos, R. **The keys to control a coronavirus disease 2019 outbreak in a haemodialysis unit**. *Clinical Kidney Journal*. 2020: 1–8.
6. Fragkou, P. C.; Papaevangelou, V.; Antoniadou, A.; Kavvatha, D.; Ploussi, A.; Pantazis N.; Sirmipilantze, T.; Psarrakis, C.; Pournaras, S. A.; Tsiodras, S. and Kelekis, A. **Preliminary Data of a Quantitative Point of Care Test for SARS-CoV-2 Antibodies From Greece**. *In vivo*. 34: xxx-xxx (2020).
7. Ezhilan, M.; Suresh, I. and Nesakumar, N. **SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2: A Diagnostic Challenge**. *Measurement*. 168 (2021): 108335. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108335>. Aug. 2020.
8. Daniel E. Noyola, et al. Comparison of a New Neuraminidase Detection Assay with an Enzyme Immunoassay, Immunofluorescence, and Culture for Rapid Detection of Influenza A and B Viruses in Nasal Wash Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Mar. 2000, p. 1161–1165 Vol. 38, No. 3
9. Adriana Weinberg and Miranda L. Walker. Evaluation of Three Immunoassay Kits for Rapid Detection of Influenza Virus A and B. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*, Mar. 2005, p. 367–370 Vol. 12, No. 3
10. Andreea C. Cazacu, Gail J. Demmler et al. Comparison of a New Lateral-Flow Chromatographic Membrane Immunoassay to Viral Culture for Rapid Detection and Differentiation of Influenza A and B Viruses in Respiratory Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Aug. 2004, p. 3661–3664 Vol. 42, No. 8.
11. Kenneth E. Irmen and James J. Kelleher. Use of Monoclonal Antibodies for Rapid Diagnosis of Respiratory Viruses in a Community Hospital. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, May 2000, p. 396–403 Vol. 7, No. 3.
12. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance. 11 September 2020. World Health Organization.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

IVD	In vitro diagnostic device Producto para diagnóstico in vitro		Keep dry Almacenar en lugar seco		Use by Fecha de caducidad		Manufacturer Fabricante	LOT	Batch code Número de lote
	Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso		Temperature limitation Limitación de temperatura		Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	DIL	Sample diluent Diluyente de muestra	REF	Catalogue number Número de referencia
	Do not re-use No reutilizar		CE marking/ Marcado CE						



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es



F-368 rev00



CERTEST SARS-CoV-2 POSITIVE CONTROL
CERTEST Influenza A POSITIVE CONTROL
CERTEST Influenza B POSITIVE CONTROL

INTENDED USE

The CerTest SARS-CoV-2 Positive Control is an external quality control for CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test. **Only for the strip A (SARS-CoV-2).**

The CerTest Influenza A Positive Control is an external quality control for CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test. **Only for the strip B (FLU A).**

The CerTest Influenza B Positive Control is an external quality control for CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test. **Only for the strip C (FLU B).**

Use those positive control swabs to check that the extraction reagents and the test are working properly.

COMPOSITION

CerTest SARS-CoV-2 Positive Control: inactivated SARS-CoV-2 antigens dried in swab containing a preservative.

CerTest Influenza A Positive Control: inactivated type A Influenza antigens dried in swab containing a preservative.

CerTest Influenza B Positive Control: inactivated type B Influenza antigens dried in swab containing a preservative.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The reagent is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The reagent must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- The swab must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
- Do not use the swab if the aluminium pouch has been damaged during storage.
- The swab should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- The presence of yellow lines in the results window (control line zone and test line zone), before using the test, is completely normal and does not imply failure of the test functionality.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask.
- Do not eat, drink or smoke in the working area.

MATERIALS PROVIDED (CAT.: SS872001PC)

MATERIALS PROVIDED

- CerTest SARS-CoV-2 Positive Control swab
- CerTest Influenza A Positive Control swab
- CerTest Influenza B Positive Control swab
- CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card tests
- Reagent SARS-CoV-2+Flu A + Flu B (CAT.: SS101501B)
- Testing tubes
- Disposable pipettes
- Instructions for use

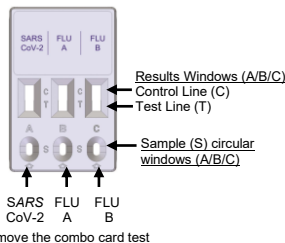
MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Disposable gloves
- Timer

QUALITY CONTROL TESTING PROCEDURE

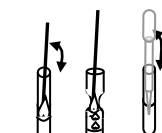
Allow tests and positive control swabs to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

1. Remove the CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test from its sealed bag just before using (1).
2. Open the cap (2). This reagent is the same for both positive control swabs and for the samples. Use a separate pipette and testing tube for each control.

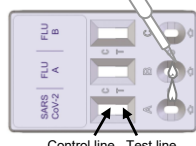


CerTest SARS-CoV-2 Positive Control swab procedure

3. Add 15 drops (approx. 500µL) (3) of reagent and immediately introduce the **SARS-CoV-2 Positive Control swab** into the testing tube.
4. Mix de solution by rotating the positive control swab forcefully against the side of the testing tube at least 1 minute. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn (4). Discard the swab.
5. Dispense 3 drops (approx. 120µL) from the testing tube in the **circular window marked with the letter A (5).**
6. **Read the result at 10 minutes.** Do not read the test result after more than 10 minutes.



Wait 10 minutes

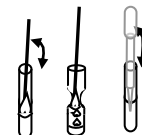


CerTest Influenza A Positive Control swab procedure

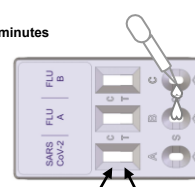
7. Take the reagent (the same used in the CerTest SARS-CoV-2 Positive Control procedure and samples procedure), add 15 drops (approx. 500µL) (6) of diluent into a different testing tube and immediately introduce the **Influenza A Positive Control swab** into the testing tube
8. Mix the solution by rotating the positive control swab forcefully against the side of the testing tube at least 1 minute. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the tube as the swab is withdrawn (7). Discard the swab.
9. Dispense 3 drops (approx. 120µL) from the testing tube in the **circular window marked with the letter B (8).**
10. **Read the result at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.



(6) Add 15 drops of the Reagent SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B



(7) Introduce the **CerTest Influenza A Positive Control swab** into the testing tube rotating 1 minute and extract the liquid



Wait 10 minutes

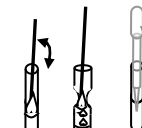
(8) Add 3 drops in the circular window **Influenza A (strip B)**

CerTest Influenza B Positive Control swab procedure

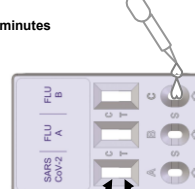
11. Take the reagent (the same used in the CerTest SARS-CoV-2 and Influenza A Positive Control procedure and samples procedure), add 15 drops (approx. 500µL) (9) of diluent into a different testing tube and immediately introduce the **Influenza B Positive Control swab** into the testing tube
12. Mix the solution by rotating the positive control swab forcefully against the side of the testing tube at least 1 minute. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the tube as the swab is withdrawn (10). Discard the swab.
13. Dispense 3 drops (approx. 120µL) from the testing tube in the **circular window marked with the letter C (11).**
14. **Read the result at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.



(9) Add 15 drops of the Reagent SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B



(10) Introduce the **CerTest Influenza B Positive Control swab** into the testing tube rotating 1 minute and extract the liquid



Wait 10 minutes

(11) Add 3 drops in the circular window **Influenza B (strip C)**

INTERPRETATION OF THE RESULTS (please refer to the illustration below)

VALID RESULT

Strip A: SARS-CoV-2 POSITIVE. A GREEN line (control line (C)) and a RED line (SARS-CoV-2 test line (T)) in the result window result appear at the same time. That means the test is working properly.

Strip B: Influenza A POSITIVE. A GREEN line (control line (C)) and a RED line (Influenza A test line (T)) in the result window appear at the same time. That means the test is working properly.

Strip C: Influenza B POSITIVE. A GREEN line (control line (C)) and a RED line (Influenza B test line (T)) in the result window appear at the same time. That means the test is working properly.

CerTest SARS-CoV-2 Positive Control is a control for strip A in CerTest SARS-CoV-2+Flu A + Flu B combo card test.

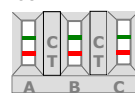
CerTest Influenza A Positive Control is a control for strip B in CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test.

CerTest Influenza B Positive Control is a control for strip C in CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test.

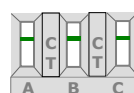
INVALID RESULTS

Any other result is considered to be invalid. Total absence of the control colored lines (GREEN) regardless the appearance or not of the test lines (RED), or only the control (C) coloured lines (GREEN). Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new positive control swab.

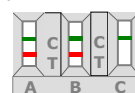
1. POSITIVE



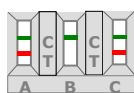
2. INVALID



3. INVALID

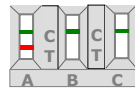


4. INVALID

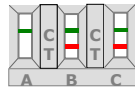


A: Green-Red→Positive SARS-CoV-2
B: Green-Red→Positive FLU A
C: Green-Red→Positive FLU B

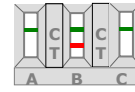
5. INVALID



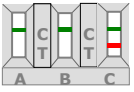
6. INVALID



7. INVALID



8. INVALID



	A SARS-CoV-2	B FLU A	C FLU B	Interpretation of the results
1	+	+	+	SARS-CoV-2 (A) POSITIVE , Influenza A (B) POSITIVE and Influenza B (C) POSITIVE : A GREEN line (control line (C)) and a RED line (test line (T)) in the three strips, in the results window, appear at the same time due to presence of antigens in the SARS-CoV-2 Positive Control swab in strip A, presence of antigens in Influenza A Positive Control swab in strip B and presence of antigens in Influenza B Positive Control swab in strip C.
2,3,4,5,6,7	Any other result			Invalid result, we recommend repeating the assay with another test and positive control swabs.

SYMBOLS FOR IVD PRODUCTS AND REAGENTS

IVD

In vitro diagnostic device

LOT

Batch code

Consult instructions for use

REF

Catalogue number

Keep dry

Σ

Contains sufficient for <n> tests

Temperature limitation

Manufacturer

Use by

DIL

Diluent

Control

Positive Control

Do not re-use

CE

CE marking



CerTest Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza
BIOTEC S.L. (SPAIN) www.cerTEST.es





CERTEST SARS-CoV-2 POSITIVE CONTROL
CERTEST Influenza A POSITIVE CONTROL
CERTEST Influenza B POSITIVE CONTROL

USO PREVISTO

CerTest SARS-CoV-2 Positive Control es un control de calidad externo para CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test. **Solamente para la tira A (SARS-CoV-2).**
 CerTest Influenza A Positive Control es un control de calidad externo para CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test. **Solamente para la tira B (Influenza A).**
 CerTest Influenza B Positive Control es un control de calidad externo para CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test. **Solamente para la tira C (Influenza B).**
 Estos hisopos control positivo se deben usar para evaluar que los reactivos y el funcionamiento del test son adecuados.

COMPOSICIÓN

CerTest SARS-CoV-2 Positive Control: antígenos inactivados de SARS-CoV-2 secados en hisopo, contiene un conservante.
 CerTest Influenza A Positive Control: antígenos inactivados de Influenza tipo A secados en hisopo, contiene un conservante.
 CerTest Influenza B Positive Control: antígenos inactivados de Influenza tipo B secados en hisopo, contiene un conservante.

CONDICIONES ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- El hisopo no debe usarse después de dos horas abierto su envase.
- No utilizar los hisopos si el envase que los contiene ha sido dañado durante su almacenamiento.
- Los hisopos usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona línea de control y zona línea de test), antes de utilizar el test, es completamente normal y no supone fallo de funcionalidad del test.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

MATERIALES SUMINISTRADOS (REF.: SS872001PC)

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Hisopo CerTest SARS-CoV-2 Positive Control
- Hisopo CerTest Influenza A Positive Control
- Hisopo CerTest Influenza B Positive Control
- CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card tests
- Reactivo SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B (REF.: SS101501B)
- Tubos de ensayo
- Pipetas de plástico desechables
- Instrucciones de uso

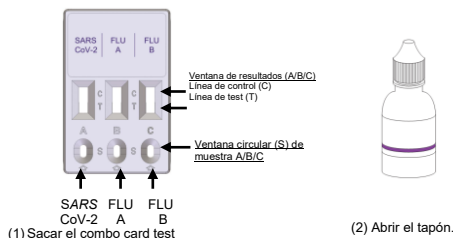
MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

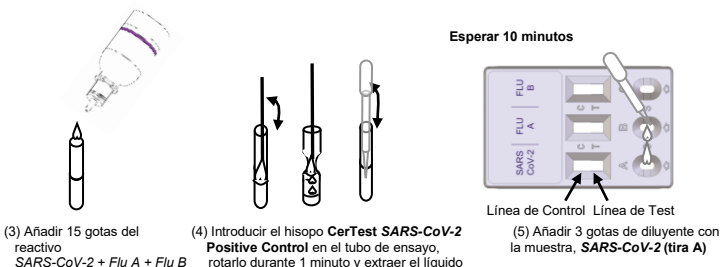
Previamente los tests y los hisopos control positivo se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 °C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Sacar CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test de su envase sellado antes de utilizar (1).
2. Abrir el tapón (2). El diluyente es el mismo para ambos hisopos y para la dilución de muestras. Usar una pipeta y un tubo de ensayo diferente para cada control.



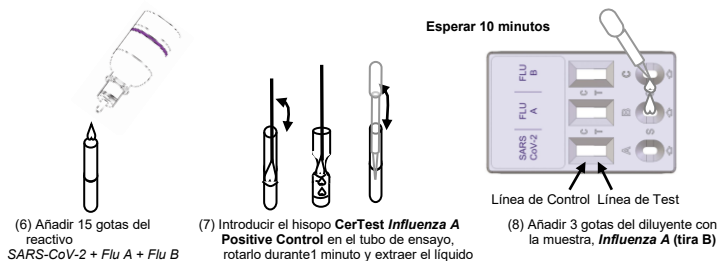
Procedimiento para el hisopo CerTest SARS-CoV-2 Positive Control

3. Añadir 15 gotas (aprox. 500µL) (3) del reactivo e inmediatamente introducir el hisopo SARS-CoV-2 Positive Control en el tubo de ensayo.
4. Mezclar la solución rotando el hisopo contra las paredes del tubo de ensayo al menos durante 1 minuto. Extraer la máxima cantidad posible de líquido del hisopo presionando las paredes del tubo. (4). Desechar el hisopo.
5. Añadir 3 gotas (aprox. 120µL) a partir del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra A (5).
6. Leer el resultado a los 10 minutos. No leer el resultado pasados los 10 minutos.



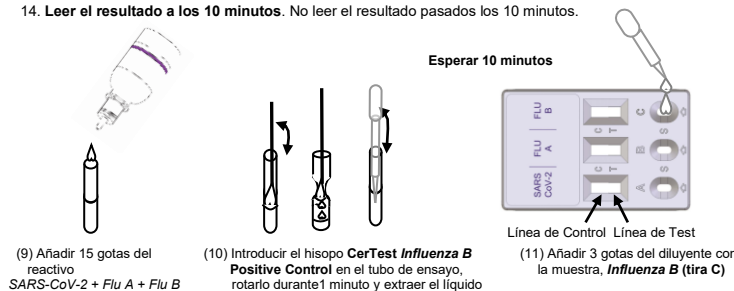
Procedimiento para el hisopo CerTest Influenza A Positive Control

7. Añadir 15 gotas (aprox. 500µL) (6) del reactivo (el mismo reactivo utilizado para el hisopo control positivo SARS-CoV-2 y para las muestras) en un tubo de ensayo diferente al usado anteriormente.
8. Inmediatamente poner el hisopo Influenza A Positive Control en el tubo de ensayo y mezclar la solución rotando el hisopo contra las paredes del tubo al menos durante 1 minuto. Extraer la máxima cantidad posible de líquido a partir del hisopo presionando las paredes del tubo (7). Desechar el hisopo.
9. Añadir 3 gotas (aprox. 120µL) a partir del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra B (8).
10. Leer el resultado a los 10 minutos. No leer el resultado pasados los 10 minutos.



Procedimiento para el hisopo CerTest Influenza B Positive Control

11. Añadir 15 gotas (aprox. 500µL) (9) del reactivo (el mismo reactivo utilizado para el hisopo control positivo SARS-CoV-2 e Influenza A y para las muestras) en un tubo de ensayo diferente al usado anteriormente.
12. Inmediatamente poner el hisopo Influenza B Positive Control en el tubo de ensayo y mezclar la solución rotando el hisopo contra las paredes del tubo al menos durante 1 minuto. Extraer la máxima cantidad posible de líquido a partir del hisopo presionando las paredes del tubo (10). Desechar el hisopo.
13. Añadir 3 gotas (aprox. 120µL) a partir del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra C (11).
14. Leer el resultado a los 10 minutos. No leer el resultado pasados los 10 minutos.



INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS (ver ilustraciones siguientes)

RESULTADOS VÁLIDOS:

Tira A: SARS-CoV-2 POSITIVO: Además de la línea VERDE (línea de control (C)), una línea ROJA (línea de test de SARS-CoV-2) aparece en la ventana de resultados. Esto significa que el test funciona correctamente.

Tira B: Influenza A POSITIVO: Además de la línea VERDE (línea de control (C)), una línea ROJA (línea de test de Influenza A) aparece en la ventana de resultados. Esto significa que el test funciona correctamente.

Tira C: Influenza B POSITIVO: Además de la línea VERDE (línea de control (C)), una línea ROJA (línea de test de Influenza B) aparece en la ventana de resultados. Esto significa que el test funciona correctamente.

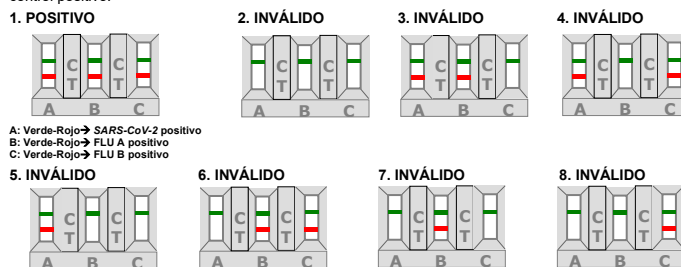
CerTest SARS-CoV-2 Positive Control es un control para la tira A de CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test.

CerTest Influenza A Positive Control es un control para la tira B de CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test.

CerTest Influenza B Positive Control es un control para la tira C de CerTest SARS-CoV-2 + Flu A + Flu B combo card test.

RESULTADOS NO VÁLIDOS:

Cualquier otro resultado es considerado como un resultado inválido. Cuando las líneas de control (VERDES) no aparecen, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJAS), o si sólo aparecen las líneas de control (VERDES). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test y nuevos hisopos control positivo.



	A SARS-CoV-2	B FLU A	C FLU B	Interpretation of the results
1	+	+	+	SARS-CoV-2 (A) POSITIVO, Influenza A (B) POSITIVO e Influenza B (C) POSITIVO: Una línea VERDE aparece (línea de control (C)) y una línea ROJA aparece (línea de test (T)) en cada una de las tres tiras, en la ventana de resultados, debido a la presencia de antígenos en el hisopo control positivo SARS-CoV-2 en la tira A, el hisopo control positivo Influenza A en la tira B y el hisopo control positivo Influenza B en la tira C.
2,3 4,5 6,7, 8	Cualquier otro resultado			Resultado Inválido, se recomienda repetir la prueba con otro test y controles positivos.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

