Kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD

REF

MD04901, 96 reacciones
MD04902, 4 x 96 reacciones

***Solo para uso profesional de diagnóstico* in vitro**

CE IVD

ES

Instrucciones de uso (IDU)

IM-006es

VERSION 03/2022, Octubre 2022

NZYTech - Genes & Enzymes
Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal
Tel.:+351.213643514 Fax: +351.217151168
www.nzytech.com

Contenido

1. Introducción 3

2. Uso previsto 3

3. Principios del ensayo 4

4.Composición del kit 5

5. Almacenamiento, estabilidad y condiciones de manipulación 5

6. Materiales e instrumentos necesarios pero no suministrados 6

7. Recogida y preparación de muestras 6

8. Precauciones y advertencias 6

8.1 Información de seguridad 7

8.2 Requisitos de manipulación y procedimiento 7

9. Procedimiento de prueba 8

9.1 Montaje de la reacción 8

9.2 Programación del instrumento de PCR en tiempo real 9

10. Análisis de datos 9

10.1 Ejecutar los criterios de validación 9

10.2 Interpretación de los resultados de las pruebas 10

11. Evaluación del rendimiento 12

11.1 Resultados esperados 12

11.2 Límite de detección (LoD) - Sensibilidad analítica 12

11.3 Reactividad analítica (inclusividad) y especificidad analítica 14

11.4 Precisión 15

11.5 Evaluación clínica 18

12. Control de calidad 18

13. Asistencia técnica 18

14. Marcas y avisos legales 18

15. Explicación de los símbolos 19

16.Declaración de conformidad 20

17. Bibliografía 21

1. Introducción

La actual pandemia de la Enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19), identificada por primera vez en China y que se está diseminando rápidamente en la mayoría de los países, ha causado una morbilidad y una mortalidad sin precedentes en todo el mundo, lo que ha provocado una crisis sanitaria mundial y ha puesto a prueba los recursos sanitarios. El agente causante, el Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo 2 (SARS-CoV-2), es un nuevo *Betacoronavirus* con similitud filogenética al SARS-CoV. La gripe estacional, también llamada gripe de temporada, es una infección vírica contagiosa de las vías respiratorias con una importante causa mundial de morbilidad, mortalidad y carga para los servicios sanitarios. Sin embargo, su tasa de mortalidad es mucho menor que la de la COVID-19. Los tipos A y B de la gripe son los tipos dominantes de los virus de la gripe que circulan, y la mayoría de las epidemias de gripe están relacionadas con el tipo A. La transmisión zoonótica de la gripe aviar o porcina directamente a los humanos, así como la transmisión de virus reordenados, ha causado notables pandemias humanas intermitentes en las últimas décadas. Las infecciones por el virus de la gripe B (Gripe B) se limitan generalmente a los seres humanos y con menor frecuencia causan epidemias. El virus respiratorio sincitial humano (VRS) es el patógeno respiratorio viral pediátrico más importante del mundo. El VRS es un miembro del género pneumovirus de la familia de los paramixovirus. Este agente omnipresente altamente infeccioso surge cada año en epidemias estacionales y casi todo el mundo se infecta al menos una vez en los dos primeros años de vida. La enfermedad del VRS es responsable de una morbilidad y mortalidad considerables y carece de una vacuna aprobada o de un tratamiento antiviral altamente eficaz. El diagnóstico y el aislamiento rápidos son necesarios para evitar la transmisión nosocomial e iniciar el tratamiento adecuado.

Las infecciones respiratorias pueden "actuar de forma sinérgica", lo que significa que las posibles interacciones entre el SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios podrían aumentar la gravedad de la enfermedad. Todos estos virus son muy contagiosos y se transmiten por contacto, por gotículas respiratorias (tos y estornudos) y por superficies contaminadas. La COVID-19 puede confundirse clínicamente con la neumonía causada por el VRS o el virus de la gripe y la coinfección conlleva un mal pronóstico. Además, la mayor circulación de otros virus respiratorios ejercerá presiones de selección sobre el SARS-CoV-2 y podría dar lugar a la aparición de nuevas variantes preocupantes. Por lo tanto, se necesita una acción crucial para detener una "triple mezcla letal" de COVID-19, gripe y VRS. Las infecciones por COVID-19, gripe y VRS suelen ser difíciles de diferenciar basándose únicamente en los síntomas y cada uno de los virus es muy contagioso. A medida que nos adentramos en la temporada de gripe, será bienvenido un análisis para detectar enfermedades respiratorias comunes junto con la COVID-19.

La detección precoz de los virus del SARS-CoV-2, del VRS y de la gripe de tipo A y B es vital para proporcionar un tratamiento rápido a los pacientes infectados con enfermedades respiratorias y, por tanto, para reducir la propagación de las infecciones. Las pruebas combinadas para la COVID-19 y la gripe serán beneficiosas, ya que una sola muestra podría utilizarse para distinguir las tres infecciones en pacientes que presentan síntomas similares, lo que proporcionaría la solución para el manejo de los pacientes con enfermedades similares a la gripe.

2. Uso previsto

El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech es una prueba molecular destinada a la detección cualitativa rápida de los agentes causantes de la COVID-19, VRS (subtipos A y B) y Gripe (gripe A y gripe B) en muestras biológicas humanas. Sin embargo,

este kit no distingue entre la Gripe tipo A y la tipo B, ya que ambas se detectan en el mismo canal de fluorescencia para FAM. Además, otros betacoronavirus o virus de la gripe, por ejemplo la gripe C, no se detectan con este kit. Esta prueba está destinada a utilizarse como cribado primario en el diagnóstico del SARS-CoV-2, la Gripe A/B y el VRS en combinación con factores de riesgo clínicos y epidemiológicos. Un resultado positivo indica la presencia de ARN viral de SARS-CoV-2 y/o Gripe A/B y/o VRS, aunque es necesaria la correlación clínica con la historia del paciente y otra información diagnóstica para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados negativos no excluyen la infección y, por lo tanto, el resultado de la prueba no debe utilizarse como única base para las decisiones de gestión del paciente. Este kit está destinado a ser utilizado por personal capacitado de laboratorio, específicamente instruido en técnicas de PCR en tiempo real y diagnóstico *in vitro*.

3. Principios del ensayo

El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPRCR, IVD de NZYTech proporciona el conjunto completo de reactivos y sondas para detectar cualitativamente los genomas del SARS-CoV-2 y/o de la Gripe y/o del VRS, a través de las plataformas comunes de PCR en tiempo real (véanse las especificaciones de los instrumentos necesarios en la **Sección 6**). El SARS-CoV-2 se identifica mediante la detección de dianas de RT-qPCR localizadas en los genes RdRp y N, mientras que el VRS (subtipos A y B) se identifica mediante la detección de dianas localizadas en el gen L. En cambio, los virus de la Gripe A y de la Gripe B se detectan mediante la amplificación de dianas localizadas en los genes M1 y NS2, respectivamente. El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech está construido para tener el perfil de detección más amplio posible, sin dejar de ser específico para los genomas del SARS-CoV-2, VRS, Gripe tipos A y B. Proporciona el conjunto completo de reactivos y sondas para detectar los cuatro genomas virales, incluyendo un control interno eficaz para confirmar la extracción eficiente del ARN de la muestra y la ausencia de inhibidores de la PCR, entre otros. Este kit se dirige a regiones altamente conservadas de los genomas del SARS-CoV-2, del VRS (subtipos A y B) y de la Gripe A y B, mediante un conjunto de cebadores/sondas altamente optimizado. Además, los cebadores y las sondas no muestran ninguna homología significativa con genomas no relacionados, lo que hace que esta prueba sea altamente específica, y no se observará ninguna reactividad cruzada con organismos que puedan encontrarse en el tracto respiratorio. La evolución natural de los virus detectados por este kit implica que cada día se dispondrá de nueva información sobre la secuencia, lo que refleja estrategias de adaptación viral bien conocidas. Por ello, NZYTech revisa periódicamente las dianas genómicas virales y, si es necesario, lanzará nuevas versiones de este kit. La RT-qPCR en un solo paso es el método más rápido y fiable para realizar una detección precisa de los ARN virales del SARS-CoV-2, la Gripe A y B y el VRS. El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech es un ensayo multiplex que detecta el SARS-CoV-2, la Gripe A, la Gripe B, el VRS y los ácidos nucleicos humanos (que actúan como control positivo interno). El ARN extraído y purificado se transcribe a ADNc y posteriormente se amplifica en una sola reacción utilizando seis conjuntos de cebadores/sondas altamente específicos, es decir, los que detectan la ARN polimerasa dependiente del ARN del SARS-CoV-2 (RdRp) y los genes de la fosfoproteína de la nucleocápside (N), los genes específicos de la matriz (M1) y de la estructura 2 (NS2) de la Gripe A y B, y el gen L del VRS y el gen de la ribonucleasa P humana (RNasa P, RP). El kit aprovecha el llamado principio TaqMan®. Durante este proceso, las sondas se acoplan específicamente a sus genes diana y tras la amplificación del ADN, a través de dos cebadores flanqueantes, se someten a una degradación que conduce a la separación del colorante

reportero del quencher, lo que da lugar a un aumento de la fluorescencia. La detección del control interno (el gen de la RNasa P humana) valida la eficacia del proceso de extracción, así como la ausencia de inhibidores de la PCR potencialmente presentes en las muestras biológicas humanas. Para permitir la identificación de la amplificación de las seis dianas específicas en una sola reacción, SARS-CoV-2, Gripe A/B, VRS y RNasa P humana, las sondas específicas están marcadas de forma diferente, concretamente con tintes reporteros Texas Red®, FAM™, HEX™ y Cy5, respectivamente. Tenga en cuenta que este panel contiene un ensayo dúplex en los canales Texas Red® (genes diana específicos del SARS-CoV-2 RdRp y N) y FAM™ (genes diana específicos de la Gripe A y la Gripe B). Esto permite informar de un rendimiento aditivo de los ensayos para la detección del SARS-CoV-2, pero impide distinguir entre las infecciones de la Gripe A/B. Además, esta prueba no pretende diferenciar los subtipos del virus de la Gripe A, ni los linajes del virus de la Gripe B o los subgrupos del VRS. Si es necesario diferenciar las cepas específicas del virus de la gripe y los subtipos del VRS, se requerirán pruebas adicionales. Además, los seis conjuntos de cebadores/sondas se suministran en concentraciones optimizadas que garantizan que la amplificación de los ácidos nucleicos menos abundantes no se vea comprometida cuando otras dianas virales están presentes en concentraciones más altas.

4. Composición del kit

El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech proporciona un conjunto completo de reactivos suficientes para realizar 96 reacciones de RT-qPCR en un solo paso.

Componente del kit		**Volumen (por vial)**	**Número de tubos**	
			MD04901	**MD04902**
COVID-19, Gripe A/B, VRS MMix	NZYSupreme Multiplex One-step RT-qPCR Probe Master Mix (2x)	1.050 µL	1	4
COVID-19, Flu A/B, RSV PPMix	COVID-19, Flu A/B, RSV Primer & Probe Mix (10x)	205 µL	1	4
COVID-19, Flu A/B, RSV POS 1	COVID-19, Flu A/B, RSV Positive Control 1	105 µL	1	4
COVID-19, Flu A/B, RSV POS 2	COVID-19, Flu A/B, RSV Positive Control 2	105 µL	1	4
NTC	Control sin plantilla (agua sin RNasa/DNasa)	105 µL	1	4

5. Almacenamiento, estabilidad y condiciones de manipulación

El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech se envía refrigerado. Todos los componentes deben almacenarse inmediatamente a una temperatura de entre -85 °C y -15 °C a su llegada. Cuando se utilicen, los componentes del kit deben devolverse al congelador inmediatamente después de su uso para minimizar el tiempo a temperatura ambiente.

- Minimizar el número de ciclos de congelación y descongelación almacenando en partes proporcionales de trabajo. Si procede, los componentes del kit pueden dividirse en volúmenes más pequeños después de la descongelación.
- El COVID-19, Flu A/B, RSV Primer & Probe Mix (10x) debe almacenarse protegido de la luz. En particular, no exponga la NZYSupreme Multiplex One-step RT-qPCR Probe Master Mix a la luz solar directa después de combinarla con la mezcla de sondas.

- Si el paquete que protege el kit ha llegado dañado, póngase en contacto con NZYTech.
- Tenga cuidado con la fecha de caducidad indicada en el envase. NZYTech no recomienda utilizar el kit después de la fecha de caducidad. En esta fecha, el kit debe ser desechado siguiendo las instrucciones de eliminación en la **Sección 8.2**.

6. Materiales e instrumentos necesarios pero no suministrados

- Instrumento de PCR en tiempo real que detecta los canales de fluorescencia Texas Red, FAM y VIC/HEX (a longitudes de onda de emisión de 615, 520 y 556 nm, respectivamente). Ver en la **Sección 11**, los modelos de instrumentos para los que se ha validado el kit.
- Equipos y consumibles para aislar el ARN viral de las muestras respiratorias.
- Material de plástico para qPCR sin RNasa/DNasa: Tubos PCR, tiras, tapas, placas de 96 pocillos, películas adhesivas.
- Pipetas y puntas con filtro (libres de RNasa/DNasa).
- Guantes desechables.
- Vortex y centrifugado.

7. Recogida y preparación de muestras

Diferentes factores, como el protocolo de recogida de muestras de las vías respiratorias humanas (hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos, lavados/aspirados nasofaríngeos, aspirados nasales, esputos, líquido de enjuague faríngeo y BAL), el transporte de las muestras, el almacenamiento y el tiempo de procesamiento, son fundamentales para lograr resultados óptimos. Las muestras recogidas deben analizarse lo antes posible. Las muestras deben ser transportadas y almacenadas a bajas temperaturas de acuerdo con las normas de bioseguridad. El ARN o los ácidos nucleicos totales extraídos siguiendo un protocolo CE IVD son el material de partida para el kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech. Asegúrese de que las muestras de ARN son adecuadas en términos de pureza, concentración e integridad del ácido nucleico. Generalmente, se acepta una relación $A_{260/280}$ de ~2 para el ARN puro. Como el etanol es un fuerte inhibidor de la PCR, es necesario eliminarlo antes de la elución del ácido nucleico durante la extracción. El kit NZYTech integra una reacción interna de control de extracción de ARN que se dirige al ARN humano, que se copurifica con el ARN viral. El ARN humano se amplifica con el conjunto de cebadores/sonda RNasa P (RP). Esto es útil para comprobar la eficacia del aislamiento del ARN y/o la presencia de inhibidores durante el procesamiento de la muestra.

8. Precauciones y advertencias

Como en cualquier procedimiento de prueba analítica, las buenas prácticas de laboratorio son esenciales. Siga cuidadosamente los procedimientos y las directrices proporcionadas en este manual para asegurarse de que la prueba se realiza correctamente. Cualquier desviación de los mismos puede dar lugar a fallos en el ensayo o causar resultados erróneos. Debido a la alta sensibilidad del kit, se debe tener especial cuidado en mantener los reactivos y las mezclas de amplificación PCR libres de contaminación.

8.1 Información de seguridad

Antes de utilizar el kit, consulte la hoja de datos de seguridad (SDS) que está disponible en el sitio web de NZYTech (**www.nzytech.com**). La detección de este kit debe ser realizada únicamente por personal formado en los procedimientos técnicos y de seguridad pertinentes en laboratorios debidamente equipados. Las directrices internacionales y nacionales sobre bioseguridad en los laboratorios deben seguirse en todas las circunstancias.

8.2 Requisitos de manipulación y procedimiento

- Solo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- No utilice este kit después de la fecha de caducidad.
- No utilice los componentes de la prueba, si el sellado del kit está dañado.
- No intercambie reactivos de diferentes lotes de producción.
- No deben utilizarse reactivos de otros fabricantes junto con los reactivos de este kit de prueba.
- En todos los procedimientos se debe utilizar material de plástico desechable y pipetas libres de DNasa/RNasa.
- Utilice puntas de filtro sin DNasa/RNasa durante todo el protocolo para evitar la contaminación por aerosoles y líquidos.
- La preparación de la muestra, el montaje de la reacción y la amplificación deben realizarse en áreas de trabajo diferentes.
- Los controles positivos contienen plantillas de alto número de copias; deben abrirse y procesarse lejos de las muestras de ensayo y de los componentes del kit para evitar la contaminación cruzada.
- Utilice siempre el agua suministrada en el kit (NTC – Control sin plantilla/agua sin DNasa).
- Al final de cada prueba, limpie las superficies de trabajo y el equipo con un eliminador de ADN/ARN.
- Manipule las placas de post-amplificación con cuidado y deséchelas inmediatamente tras terminar la prueba; las placas deben desecharse siempre en un contenedor de riesgo biológico adecuado después de su uso.
- Las muestras biológicas deben manipularse como si fueran infecciosas siguiendo las precauciones de bioseguridad adecuadas.
- Los residuos de productos químicos y preparados generalmente se consideran residuos peligrosos. La eliminación de este tipo de residuos está regulada por leyes y reglamentos nacionales y regionales.
- Todos los resultados deben ser interpretados por un profesional de la salud en el contexto de la historia clínica del paciente y los síntomas clínicos.
- Un resultado negativo en cualquier prueba de PCR no descarta de forma concluyente la posibilidad de infección.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa de protección, use permanentemente guantes desechables sin polvo, use gafas y máscara. No comer, beber ni fumar en la zona de trabajo.

9. Procedimiento de prueba

Lea atentamente las instrucciones de uso antes de realizar el ensayo. Tenga en cuenta que todos los pasos de pipeteo y la preparación de las placas experimentales deben realizarse en neveras de mesa o con hielo. Después de verter la placa, comience inmediatamente con el protocolo de RT-qPCR de un paso. La incubación prolongada de las mezclas de reacción a temperatura ambiente puede dar lugar a artefactos de PCR que reducen la sensibilidad de la detección. Antes del experimento, comience a mezclar suavemente los tubos de reacción suministrados, centrifugue durante 5 segundos para recoger el contenido en el fondo del tubo y coloque los tubos en hielo. **Recomendamos encarecidamente pipetear los controles positivos 1 y 2 de COVID-19, Gripe A/B y VRS en último lugar para evitar contaminaciones cruzadas.**

9.1 Montaje de la reacción

1. Prepare una mezcla de RT-qPCR suficiente para el número de pruebas que se van a realizar con un 5 % de volumen adicional para las pérdidas de pipeteo. Proceda según la tabla siguiente que especifica los volúmenes para 1 y *n* pruebas (donde *n* corresponde al número total de reacciones):

Componente	**1 prueba volumen (µL)**	***n* pruebas (*) volumen + 5 % (µL)**
COVID-19, Flu A/B, RSV MMix (2x)(**)	10	*n* x 10,5
COVID-19, Flu A/B, RSV Primer & Probe Mix (10x)	2	*n* x 2,1
Volumen final	**12**	***n* x 12,6**

(*) Para calcular el número total de reacciones necesarias para cada ensayo, cuente el número de muestras y añada tres más para el control negativo y los dos controles positivos.
(**) Tenga en cuenta que puede observarse un precipitado en el fondo del tubo de mezcla maestra, en particular después de múltiples ciclos de congelación/descongelación. Para garantizar un rendimiento óptimo, asegúrese de que todos los componentes estén descongelados y resuspendidos antes de su uso. En este caso, no hay que girar la mezcla maestra antes de pipetear.

2. Pipetear 12 µL de la mezcla RT-qPCR en pocillos individuales según la configuración de la placa experimental de PCR en tiempo real.
3. Para el control negativo, añada 8 µL de NTC en lugar de la plantilla de ARN en el pocillo de control negativo. El volumen final debe ser de 20 µL.
4. Para las muestras biológicas, añada 8 µL de cada muestra de ARN en los pocillos de la muestra, según la configuración de su placa experimental. El volumen final en cada pocillo debe ser de 20 µL.
5. Para los dos controles positivos, añada 8 µL de COVID-19, Flu A/B, RSV POS 1 (detecta los genes SARS-CoV-2 ORF1ab, Gripe B NS2, VRS L y RP humano) y 8 µL de COVID-19, Flu A/B, RSV POS 2 (genes SARS-CoV-2 N, Gripe A M1, VRS L y RP humano) en los pocillos de control positivo. El volumen final debe ser de 20 µL.
6. Cubra y selle la placa con una película adhesiva óptica adecuada o con tapas antes de proceder a los pasos de RT-qPCR y de detección.
7. Coloque la placa de reacción en el instrumento de PCR en tiempo real y ejecute el protocolo de RT-qPCR de acuerdo con la sección siguiente.

9.2 Programación del instrumento de PCR en tiempo real

La siguiente tabla muestra un protocolo estándar optimizado en algunas plataformas. Sin embargo, estas condiciones pueden adaptarse y validarse para ajustarse a diferentes protocolos específicos de las máquinas.

Ajustes sugeridos para la RT-qPCR

Ciclos	Temperatura	Tiempo	Paso
1	50 °C	10 min	Transcripción inversa
1	95 °C	3 min	Activación de la polimerasa
40	95 °C	5 s	Desnaturalización
	60 °C	30 s	Apareamiento/Extensión*

*Los datos fluorogénicos deben recogerse durante este paso a través de los canales Texas Red, FAM, VIC/HEX y Cy5.

Tintes fluorescentes y canales de detección

Objetivos	Tinte fluorescente	Canales de detección
COVID-19 (SARS-CoV-2)	Texas Red®	Texas Red/JUN
Gripe A/B (Gripe A/Gripe B)	FAM™	FAM
VRS	HEX™	VIC/HEX o JOE
RNasa P	Cy5™	Cy5

El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech has sido validado para los siguientes sistemas de PCR en tiempo real: Applied Biosystem® 7500 FAST, Applied Biosystem® QuantStudio 5, Roche Life Science LightCycler® 96 System y Bio-Rad® CFX Opus. Si se utiliza otro equipo, el usuario deberá validar el kit utilizando muestras caracterizadas previamente (tanto positivas como negativas).

10. Análisis de datos

10.1 Ejecutar los criterios de validación

El análisis de datos se realiza mediante el software del aparato. Teniendo en cuenta las diferencias de rendimiento en los diferentes instrumentos de PCR en tiempo real, los umbrales para las cuatro señales de fluorescencia (Texas Red, FAM, VIC/HEX y Cy5) son determinados automáticamente por el software con ajustes manuales en caso de que sea necesario. Antes de analizar los resultados de las muestras, recomendamos verificar si la prueba PCR en tiempo real es válida. Por lo tanto, para cada placa, confirme si los resultados de los controles positivos y negativos se comportaron como se esperaba, de acuerdo con los siguientes criterios:

Controles positivos: la amplificación de las curvas FAM (Gripe B en el control 1 y Gripe A en el control 2), Texas Red® (gen ORF1ab del SARS-CoV-2 en el control 1 y gen N en el control 2), VIC/HEX (gen L del VRS) y Cy5 (gen RP) son positivas. Se espera que los controles positivos amplifiquen a Cts < 32, en los cuatro canales. El hecho de no satisfacer este criterio de control de calidad es un fuerte indicio de que el experimento se ha visto comprometido.

Control negativo (NTC): no se detecta amplificación. Si el control negativo tiene curvas de amplificación (Texas Red, FAM; VIC/HEX y Cy5) con una forma sigmoidal, puede haberse producido una contaminación de la muestra. Repita la prueba siguiendo las buenas prácticas de RT-qPCR.

Si los controles están de acuerdo con lo esperado, la prueba es **válida**. Proceda a la interpretación de los resultados de las muestras analizadas.

Si alguno de los controles no muestra el resultado esperado, el ensayo se ha visto comprometido o se ha ejecutado de forma incorrecta y debe considerarse **inválido**.
Por favor, repita la prueba
Si el problema persiste, póngase en contacto con el fabricante

10.2 Interpretación de los resultados de las pruebas

El kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech utiliza los siguientes valores de corte Ct para los objetivos del ensayo para la interpretación de los resultados:

Valor Ct	Interpretación de los resultados
Amplificación Ct ≤35	**Detectado (+) → POSITIVO**
***Sin Ampliación* Ct>35**	**No se detecta (-) → NEGATIVO**

Se detecta el SARS-CoV-2 si la curva de amplificación de Texas Red muestra una forma sigmoidal con un Ct≤35, independientemente del resultado que se obtenga en el ensayo de RNasa P (Cy5).

Se detecta la Gripe A y/o la Gripe B si la curva de amplificación FAM muestra una forma sigmoidal con un Ct≤35, independientemente del resultado que se obtenga en el ensayo de RNasa P (Cy5).

Se detecta el VRS si la curva de amplificación VIC/HEX muestra una forma sigmoidal con un Ct≤35, independientemente del resultado que se obtenga en el ensayo de RNasa P (Cy5).

El SARS-CoV-2, la Gripe A y/o la Gripe B, el VRS no se detectan si las curvas de Texas Red, FAM y VIC/HEX no amplifican o amplifican a Ct>35, mientras que el ensayo de RNasa P (Cy5) muestra una curva sigmoidal positiva (Ct≤40).

La **prueba no es válida** si las pruebas de SARS-CoV-2, Gripe A/B, VRS y RNasa P son negativas. La prueba debe repetirse con ácido nucleico repurificado de la muestra.

La siguiente tabla resume la interpretación de los resultados principales (evalúa la forma general de las curvas de amplificación, **solo las curvas de amplificación sigmoidales son indicativas de una verdadera amplificación**).

SARS-CoV-2 (Texas Red)	**Gripe A/B** (FAM)	**VRS** (VIC/HEX)	**RP** (Cy5)	**Interpretación de los resultados**
+	-	-	+/-*	**SARS-CoV-2 detectado → POSITIVO**
-	+	-	+/-*	**Gripe A/B detectada → POSITIVO**
-	-	+	+/-*	**VRS → POSITIVO**
+	+	-	+/-*	**SARS-CoV-2 y Gripe A/B detectados → POSITIVO**
+	-	+	+/-*	**SARS-CoV-2 y VRS detectados → POSITIVO**
-	+	+	+/-*	**Gripe A/B y VRS detectados → POSITIVO**
+	+	+	+/-*	**SARS-CoV-2, Gripe A/B, VRS detectados → POSITIVO**
-	-	-	+/-*	**SARS-CoV-2, Gripe A/B y VRS no detectados → NEGATIVO**
-	-	-	-	**Prueba inválida, repetir la extracción**

** La detección del control interno en el canal Cy5 no es necesaria para obtener resultados positivos en los canales de detección Texas Red, FAM o HEX. Una alta concentración/carga de ARN viral detectable en la muestra puede conducir a una señal de control interno reducida o ausente.*

Nota: La interpretación de los resultados debe tener en cuenta la posibilidad de falsos negativos y falsos positivos.

• Aunque el riesgo de resultados falsos negativos está mitigado debido al diseño de doble diana de la presente prueba, los resultados falsos negativos pueden ser causados por:

- Recogida, manipulación y/o almacenamiento inadecuados de las muestras.
- Muestra recogida fuera de la fase virémica/sintomática.
- Degradación de la muestra.
- Presencia de inhibidores de la RT-qPCR.
- Mutaciones en el genoma de los virus.
- No seguir los procedimientos de este manual.
- Uso de kits de recepción o plataformas de PCR en tiempo real no validados.

• Los resultados falsos positivos pueden ser causados por:

- Manipulación inadecuada de muestras que contienen una alta concentración de ARN viral. La alta susceptibilidad del método RT-qPCR a las contaminaciones cruzadas hace que se deba tener especial cuidado durante el aislamiento del ARN
- Manipulación inadecuada de los controles positivos.
- Manipulación inadecuada del producto amplificado (placa de post-amplificación).

Los resultados negativos no excluyen la infección y el resultado de la prueba no debe utilizarse como única base para el tratamiento u otras decisiones de gestión del paciente. Además, esta prueba no puede descartar enfermedades causadas por otros patógenos bacterianos o víricos.

11. Evaluación del rendimiento

El rendimiento de este kit ha sido validado para los instrumentos especificados en la sección 9.2 (véase arriba). Si se utiliza otro equipo, el usuario deberá validar el kit utilizando muestras caracterizadas previamente (tanto positivas como negativas).

11.1 Resultados esperados

En la Figura 1 se presentan los gráficos de amplificación típicos observados en las muestras clínicas negativas (Figura 1A) o en las muestras de pacientes infectados por el SARS-CoV-2 (Figura 1B), la coinfección por el SARS-CoV-2 y la Gripe A/B (C) y la coinfección por el SARS-CoV-2, la Gripe A/B y el VRS (D).

11.2 Límite de detección (LoD) - Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se definió como la menor concentración de analito que podía detectarse de forma fiable con un 95 % de confianza. Esto se evaluó analizando los ácidos nucleicos de SARS-CoV-2, VRS, Gripe A y Gripe B en diferentes números de copias, mezclados con ARN extraído de muestras orofaríngeas negativas, utilizando 3 lotes diferentes del kit siguiendo las condiciones típicas de reacción de prueba. Las pruebas se repitieron durante 4 días, produciendo 48 réplicas para cada concentración probada. En conjunto, los datos revelaron que el kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD detecta 0,25 copias/µL de SARS-CoV-2, 0,375 copias/µL de Gripe A, 0,375 copias/µL de Gripe B y 0,375 copias/µL de VRS con una confianza ≥95 %.

Así, se determinó que el límite de detección (LoD) provisional era de 0,25 copias/µL o 250 copias/mL para el SARS-CoV-2, 0,375 copias/µL o 750 copias/mL para el VRS, 0,375 copias/µL o 375 copias/mL para la Gripe A y 0,375 copias/µL o 375 copias/mL para la Gripe B. El LoD provisional fue confirmado por dos operadores diferentes utilizando tres lotes del kit en un experimento con un total de 48 réplicas de muestras de hisopos orofaríngeos (OPS) e hisopos nasofaríngeos (NPS) negativos mezclados y manipulados con varias concentraciones de virus (inactivados) de SARS-CoV-2, Gripe A, Gripe B, VRS A o VRS B. Las muestras de NP o de OP agrupadas se enriquecieron con varias concentraciones de virus de las siguientes cepas: Virus SARS-CoV-2 (variante aislada omicron), virus de la Gripe A: cepa A/Michigan/45/2015 (H1N1) pdm09, cepa A/Singapur/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2), virus de la Gripe B: cepa B/Colorado/06/2017 (linaje de Vitoria) y cepa B/Phuket/3073/2013 (linaje de Yamagata), VRS A y VRS B (cepa CH93 (18)-18), en varias concentraciones y procesados mediante el kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD.

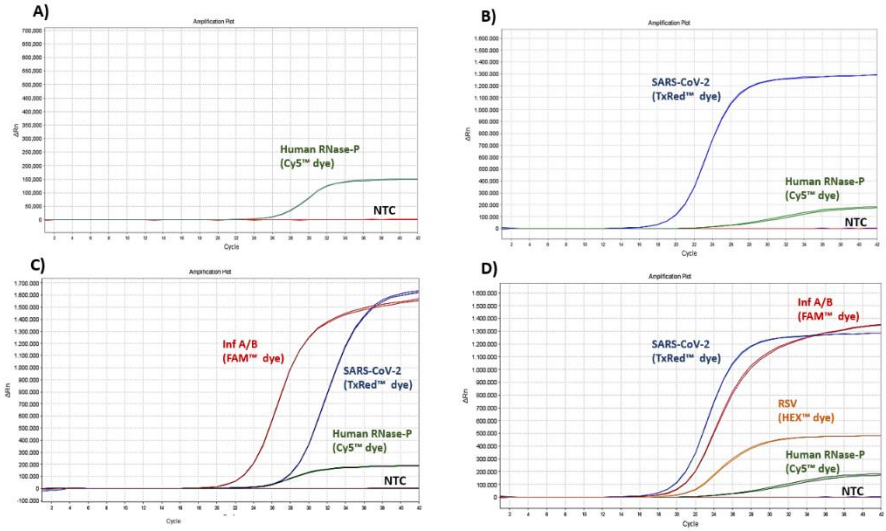

Figura 1. Detección de dianas de SARS-CoV-2, Gripe A/B, VRS y RNasa-P humana a partir de muestras clínicas negativas (A) o muestras clínicas infectadas con SARS-CoV-2 (B), coinfección con SARS-CoV-2 y Gripe A/B (C) y coinfección con SARS-CoV-2, Gripe A/B y VRS (D). Curva azul, detección de las dianas de ARNv del SARS-CoV-2 a través del canal Texas Red/JUN. Curva roja, detección de las dianas de Gripe A y/o Gripe B a través del canal FAM. Curva naranja, detección del gen VRS L a través del canal VIC/HEX/JOE. Curva verde, detección del gen de la RNasa P humana a través del canal Cy5.

Se evaluó la sensibilidad analítica del kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD en el contexto de un escenario de coinfección (interferencia competitiva) realizando una serie de experimentos de dilución en serie utilizando muestras simuladas de coinfección para cada uno de los objetivos virales. Para crear los especímenes de coinfección simulada, se añadieron exactamente 10^3 copias de VRS, 10^3 copias de Gripe A y 10^3 copias de ácidos nucleicos de Gripe B a la curva estándar de SARS-CoV-2. Por el contrario, se añadieron 10^3 copias de SARS-CoV-2 y 10^3 copias de VRS a las curvas estándar individuales de Gripe A y Gripe B. Por último, se añadieron a la curva estándar del VRS 10^3 copias de SARS-CoV-2, 10^3 copias de Gripe A y 10^3 copias de Gripe B. Se probaron muestras por cuadruplicado de tres lotes del kit (haciendo un total de 12 réplicas por dilución) con el kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD para determinar la sensibilidad del ensayo cuando hay múltiples dianas virales presentes en una muestra. Los datos revelaron que el LoD del SARS-CoV-2 no se alteraba en caso de coinfección. Sin embargo, el LoD del VRS cambiaba a 0,75 copias/µL o 750 copias/mL y la de la Gripe B cambiaba a 1,25 copias/µL o 1250 copias/mL en caso de coinfección. Para la Gripe A, el LoD cambió a 2,5 copias/µL o 2500 copias/mL en caso de coinfección.

11.3 Reactividad analítica (inclusividad) y especificidad analítica

La inclusividad y la reactividad cruzada se evaluaron mediante el análisis *in silico* de las sondas de oligonucleótidos y los cebadores contra patógenos relacionados con el SARS-CoV-2, la Gripe A y la Gripe B, el VRS y los patógenos normales que causan una infección con síntomas similares, respectivamente. Tras un análisis *in silico*, se descubrió que el diseño del ensayo detectaba todas las cepas del virus del SARS-CoV-2, de la Gripe A y de la Gripe B, así como del VRS, y no mostraba reactividad con especies no relacionadas. Además del análisis *in silico* , se realizó la RT-qPCR de un paso de COVID-19, Gripe A/B, VRS en ácidos nucleicos de microbios comunes del tracto oral y respiratorio, incluyendo *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Dickeya dadantii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium smegmatis*, *Nocardia nova*, *Pseudomonas mendocina*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces albidoflavus*. Ninguno de los patógenos analizados por el kit COVID-19 & Flu A/B Multiplex One-Step RT-qPCR (IVD) generó una señal de amplificación detectable.

Se evaluó el impacto de 17 sustancias potencialmente interferentes en pruebas que consistían en muestras nasofaríngeas negativas con muestras positivas al SARS-CoV-2 a ~3x LoD. Se añadieron a las muestras artificiales sustancias potencialmente interferentes en concentraciones que representaban los niveles más altos esperados en las muestras respiratorias de pacientes humanos, según los datos de la literatura. Todas las pruebas se realizaron por triplicado utilizando tres lotes del kit, y los resultados se compararon con los datos obtenidos con una prueba de control que no contenía interferentes. En las concentraciones probadas, los resultados revelaron que ninguna de las moléculas sometidas a prueba afectaba a la sensibilidad de la detección. La tabla siguiente resume los datos recogidos en estos experimentos. Todos los experimentos se realizaron en el instrumento de PCR en tiempo real Applied Biosystems™ 7500 FAST (utilizado con el software 7500 v2.3).

Interferente potencial	Principio activo	Concentración final en muestra	Interferencia Si (S) o No (N)				
			SARS-CoV-2	Flu A	Flu B	RSV A	RSV B
Agua de mar isotónica (Rhinomer)	NaCl	15% v/v	N	N	N	N	N
Spray de garganta, anestésico oral, y analgesico (Strepfen)	Flurbiprofeno	5% v/v	N	N	N	N	N
Solución de lavado nasal (Todos los sprays de alergia - Vibrocil)	Fluticasone propionate	5% v/v	N	N	N	N	N
Spray de corticoesteroides nasal (Nasomet)	Mometasone furoate	5% v/v	N	N	N	N	N
Spray de corticoesteroides nasal (Pulmicort)	Budesonida	5% v/v	N	N	N	N	N
Antimicrobiano systemico (Trobex)	Trobamycina	10 µg/mL	N	N	N	N	N
Analgésico bucal, antiinflamatorio y antiseptico (Pyralvex)	Rhubard extract, Salicylic acid	5% v/v	N	N	N	N	N
Crema orofaringea antifúngica y antibacteriana (Daktarin)	Miconazol	5 mg/mL	N	N	N	N	N
Solución antiséptica para lavado bucal(Eludril Gél)	Chlorhexidine gluconate, Chlorobutanol hemihydrate	5% v/v	N	N	N	N	N
Jarabe antiusivo (Codipront)	Codeina, Phenyltoloxamine citrate	5% v/v	N	N	N	N	N
Sangre completa (humana)	-	4% v/v	N	N	N	N	N
Medicamentos antivirales (Tamiflu)	Oseltamivir	7,5 mg/mL	N	N	N	N	N
Mucolíticos (Mucolsovan)	Ambroxol hydrochloride	5% v/v	N	N	N	N	N
Solución de gotas nasales (Nasarox)	Oxymetazoline Chlorhydrate	10% v/v	N	N	N	N	N
Ungüento nasal antibiótico (Bactroban)	Mupirocin	5 mg/mL	N	N	N	N	N
Saliva (humana)	-	25% v/v	N	N	N	N	N
Etanol absoluto	Alcohol	5% v/v	N	N	N	N	N

11.4 Precisión

La precisión del ensayo para el kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech se determinó mediante el análisis repetido de muestras positivas que representaban dos niveles de carga viral, 3x LoD y 30x LoD copias por reacción, mezcladas con ARN extraído de muestras orofaríngeas negativas, utilizando 3 lotes diferentes del kit y siguiendo las condiciones típicas de la reacción de ensayo. La precisión se evaluó midiendo la media de Cq, el coeficiente de variación de Cq y el % de detección de réplicas, como se describe a continuación para cada caso. Los datos se retoman en las tres tablas (una para cada objetivo) que se muestran a continuación.

11.4.1. Repetibilidad

La repetibilidad fue evaluada por un operador analizando 12 réplicas de cada muestra (3x LoD y 30x LoD copias por reacción), lo que supone un número final de 24 pruebas realizadas por objetivo.

11.4.2. Reproducibilidad diaria

La reproducibilidad diaria fue evaluada por un operador analizando 48 réplicas de cada muestra (3x LoD y 30x LoD copias por reacción), durante 4 días, con 12 réplicas de cada concentración por día (se realizaron un total de 96 ensayos por objetivo).

11.4.3. Reproducibilidad entre lotes

La reproducibilidad entre lotes fue evaluada por un operador mediante el análisis de 84 réplicas de cada muestra (3x LoD y 30x LoD copias por reacción) utilizando 3 lotes diferentes del kit con 28 réplicas por lote.

11.4.4. Reproducibilidad del operador

La reproducibilidad del operador se evaluó probando 24 réplicas de cada muestra (3x LoD y 30x LoD copias por reacción), por cuatro operadores diferentes con 6 réplicas por operador y por carga viral, haciendo un total de 36 réplicas por operador, incluyendo los 3 objetivos del kit.

11.4.5 Reproducibilidad interinstrumental

La reproducibilidad interinstrumental fue medida por un operador mediante la prueba de 24 réplicas de cada muestra (3x LoD y 30x LoD copias por reacción), en dos instrumentos de qPCR diferentes (Applied Biosystems™ 7500 FAST, Applied Biosystems™ QuantStudio 5), en un total de 48 ensayos por muestra.

Precisión del kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech mientras detecta el objetivo SARS-CoV-2.

Variable		SARS-CoV-2 (Copias/Reacción)	
		3x LoD	30x LoD
Repetibilidad	n	12	12
	Cq medio	33,84	30,75
	Coeficiente de variación (%)	0,61	0,19
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	48	48
	Cq medio	33,79	30,66
	Coeficiente de variación (%)	2,02	1,62
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad entre lotes	n	84	84
	Cq medio	33,82	30,59
	Coeficiente de variación (%)	1,96	1,60
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad del operador	n	24	24
	Cq medio	33,86	30,73
	Coeficiente de variación (%)	1,26	1,13
	Detección de réplicas	100	100
Interinstrumento Reproducibilidad	n	24	24
	Cq medio	33,83	30,30
	Coeficiente de variación (%)	2,20	1,49
	Detección de réplicas	100	100

Precisión del kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech mientras detecta el objetivo Gripe A.

Variable		Gripe A (Copias/Reacción)	
		3x LoD	30x LoD
Repetibilidad	n	12	12
	Cq medio	34,39	31,26
	Coeficiente de variación (%)	3,31	1,05
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	48	48
	Cq medio	34,30	30,92
	Coeficiente de variación (%)	2,90	1,52
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad entre lotes	n	84	84
	Cq medio	34,28	30,76
	Coeficiente de variación (%)	2,55	1,88
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad del operador	n	24	24
	Cq medio	34,14	30,97
	Coeficiente de variación (%)	1,43	0,57
	Detección de réplicas	100	100
Interinstrumento Reproducibilidad	n	24	24
	Cq medio	34,44	30,67
	Coeficiente de variación (%)	3,34	2,02
	Detección de réplicas	100	100

Precisión del kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech mientras detecta el objetivo Gripe B.

Variable		Gripe B (Copias/Reacción)	
		3x LoD	30x LoD
Repetibilidad	n	12	12
	Cq medio	33,87	30,63
	Coeficiente de variación (%)	1,85	1,19
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	48	48
	Cq medio	33,75	30,23
	Coeficiente de variación (%)	2,10	2,56
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad entre lotes	n	84	84
	Cq medio	33,73	30,23
	Coeficiente de variación (%)	1,99	2,00
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad del operador	n	24	24
	Cq medio	33,70	30,34
	Coeficiente de variación (%)	1,51	0,65
	Detección de réplicas	100	100
Interinstrumento Reproducibilidad	n	24	24
	Cq medio	33,93	30,27
	Coeficiente de variación (%)	2,47	1,29
	Detección de réplicas	100	100

Precisión del kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech mientras detecta el objetivo VRS.

Variable		Gripe B (Copias/Reacción)	
		3x LoD	30x LoD
Repetibilidad	n	12	12
	Cq medio	33,66	30.126
	Coeficiente de variación (%)	1,00	0,84
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad diaria	n	48	48
	Cq medio	33,24	30,05
	Coeficiente de variación (%)	2,55	0,84
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad entre lotes	n	84	84
	Cq medio	33,50	30,26
	Coeficiente de variación (%)	2,16	1,23
	Detección de réplicas	100	100
Reproducibilidad del operador	n	24	24
	Cq medio	33,32	30,18
	Coeficiente de variación (%)	2,85	1,33
	Detección de réplicas	100	100
Interinstrumento Reproducibilidad	n	24	24
	Cq medio	33,30	30,20
	Coeficiente de variación (%)	1,19	0,90
	Detección de réplicas	100	100

11.5 Evaluación clínica

El rendimiento del kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD, de NZYTech con muestras clínicas respiratorias recogidas fue evaluado por un laboratorio de diagnóstico externo independiente. En total, se han analizado 1516 muestras clínicas, es decir, 850 muestras negativas; 293 muestras clínicas positivas para el SARS-CoV-2 (de mayo de 2021 a junio de 2022, cubriendo en este periodo varias oleadas de la enfermedad); 123 muestras clínicas positivas para la Gripe A (41 para el AH1, 41 para el AH1N1 pdm, 41 para el AH3); 82 muestras clínicas positivas para la Gripe B (41 para el linaje Vitoria y 41 para el linaje Yamagata); 168 muestras positivas para el VRS (88 para el subtipo A y 88 para el subtipo B). Los datos revelaron una concordancia del 99 % para todas las muestras positivas y negativas analizadas.

12. Control de calidad

Todos los componentes del kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD de NZYTech se prueban según los protocolos descritos anteriormente. El sistema PCR hexaplex en tiempo real permite la detección de las dianas descritas para la identificación del ARN viral del SARS-CoV-2 (genes RdRp y N), el ARN viral de la Gripe A/B (genes M1 y NS2, respectivamente), el ARN viral del VRS (gen L), así como la RNasa P humana (gen RP). Se observan amplificaciones positivas para los genes diana, el control positivo y los controles internos mediante los canales Texas Red, FAM, HEX/VIC y Cy5, de acuerdo con los respectivos tintes reporteros del conjunto de cebadores/sonda.

13. Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con nuestro equipo de asistencia técnica por teléfono: +351 (0) 21 364 35 14 o por correo electrónico: info@nzytech.com.

14. Marcas y avisos legales

Todas las marcas comerciales que aparecen en este manual son propiedad de sus respectivos dueños.

15. Explicación de los símbolos

IVD	Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*		Consultar las instrucciones de uso
REF	Número de catálogo		Fabricante
LOT	Código de lote		Uso por
	Limitación de la temperatura		Suficiente para
CONTROL +	Control positivo		Manténgase alejado de la luz del sol (mezcla de imprimación y sonda)
CONTROL –	Control negativo		

16. Declaración de conformidad

Nombre del producto: Kit COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex One-Step RT-qPCR, IVD.

Número de catálogo: MD04901 y MD04902.

Uso previsto: SARS-CoV-2, Gripe A y Gripe B, y detección cualitativa del VRS.

Fabricante: NZYTech - Genes & Enzymes,

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar

Edifício E, R/C,

1649-038, Lisboa

Portugal

Nosotros, NZYTech, Lda – Genes & Enzymes, declaramos que este producto, al que se refiere esta declaración de conformidad, está en conformidad con las siguientes normas y otros documentos normativos ISO 9001:2015 e ISO 13485:2016, siguiendo las disposiciones de la Directiva 98/79/CE y del Reglamento (UE) 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*, tal y como han sido transpuestos a las legislaciones nacionales de los Estados miembros de la Unión Europea.

La ficha técnica del producto se conserva en NZYTech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal.

Joana Brás, PhD

Directora técnica

17. Bibliografía

Swets MC, Russell CD, Harrison EM, Docherty AB, Lone N, Girvan M, Hardwick HE; ISARIC4C Investigators, Visser LG, Openshaw PJM, Groeneveld GH, Semple MG, Baillie JK (2022). SARS-CoV-2 co-infection with influenza viruses, respiratory syncytial virus, or adenoviruses. Lancet 399(10334):1463-1464. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00383-X.

Gomez GB, Mahé C, Chaves SS (2021). Uncertain effects of the pandemic on respiratory viruses. Science 372:1043-1044.

Hansen CL, Chaves SS, Demont C, Viboud C.J (2022). Mortality Associated With Influenza and Respiratory Syncytial Virus in the US, 1999-2018. AMA Netw Open. 5(2):e220527. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.0527.

Dhanasekaran, V., Sullivan, S., Edwards, K.M. et al. (2022). Human seasonal influenza under COVID-19 and the potential consequences of influenza lineage elimination. Nat Commun 13, 1721 (2022). https://doi.org/10.1038/s41467-022-29402-5.

Chotpitayasunondh T, Fischer TK, Heraud JM, Hurt AC, Monto AS, Osterhaus A, Shu Y, Tam J (2021). Influenza and COVID-19: what does co-existence mean? Influ Other Respir Viruses. 15: 407-412

OMS: Manejo clínico de la infección respiratoria aguda grave (IRAG) en caso de sospecha de COVID-19. 13 de marzo de 2020. Disponible en línea en https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf

OMS: PREGUNTAS Y RESPUESTAS: Gripe y COVID-19: ¿en qué se parecen y en qué se diferencian? 30 de septiembre de 2021. Disponible en línea en https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/q-a-similarities-and-differences-covid-19-and-influenza.

nzytech
genes & enzymes

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal
Tel.:+351.213643514 Fax: +351,217151168
www.nzytech.com