

RSV NET

(Exudado nasofaríngeo o aspirado nasal)
RSV 0326/01 Registro Sanitario: 2110R2024 SSA
REF DMVSR01

Uso deseado

La prueba rápida RSV NET (exudado nasofaríngeo o aspirado nasal) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de los antígenos del virus sincitial respiratorio (RSV) en muestras de exudado nasofaríngeo o aspirado nasal.

Resumen

El virus sincitial respiratorio (RSV, por sus siglas en inglés) es un virus que infecta con alta frecuencia a niños y adultos mayores, su infección puede causar serios problemas especialmente cuando infecta a niños en sus primeros meses de vida, la infección es causada por un virus monocatenario (ARN) envuelto que mide aproximadamente 130-300 nm de diámetro, tiene un material genético conformado por 10 genes que codifican para 11 proteínas, de las cuales 7 son estructurales [1]. La infección se da por medio del contacto persona a persona por medio de las secreciones respiratorias y/o el contacto con fómites (objetos capaces de transmitir un patógeno), el virus ingresa al cuerpo a través de la nariz, la boca o los ojos [2].

Globalmente, se estima que el RSV causa al año 33 millones de infecciones de vías respiratorias bajas, 3.2 millones de hospitalizaciones y 49, 000 fallecimientos en menores de 5 años, por otro lado, en adultos mayores causa más de 470,000 hospitalizaciones y 33,000 muertes [3]. La infección es de presencia mundial, pero tiene mayor prevalencia en países en vías de desarrollo, los grupos vulnerables son niños prematuros, lactantes menores de 24 meses, infantes con enfermedades cardíacas, adultos mayores a 65 años y adultos con un sistema inmunológico comprometido.

Los síntomas más comunes son escurrimiento nasal, apetito reducido, tos, estornudos, fiebres y sibilancias (silbidos al respirar), aunque también puede causar complicaciones graves como bronquiolitis y neumonía. Existen técnicas de diagnóstico basadas en la inmunofluorescencia e inmunoensayo enzimático que utilizan muestras de moco nasal, sin embargo, estas no suelen estar en centros de atención pública o de escasos recursos. El cultivo se emplea como prueba confirmatoria, sin embargo, requiere de 3 a 5 días para su desarrollo y finalmente la serología que tiene una sensibilidad baja en los infantes. El diagnóstico de las infecciones de vías respiratorias con pruebas rápidas permite un mejor manejo clínico del paciente, adoptar medidas de salud pública y controlar posibles brotes [4].

Principio

La prueba rápida RSV NET (exudado nasofaríngeo o aspirado nasal) para la detección cualitativa de los antígenos del virus sincitial respiratorio (RSV) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba contiene una membrana dividida en dos regiones: una región de prueba 'T' que tiene impresos anticuerpos de captura anti-RSV y una región control 'C' impresa con anticuerpos anti-ratón. La prueba también posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos de detección específicos anti-RSV. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho junto con la solución de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o presenta concentraciones de antígeno del RSV por debajo del límite de detección, no se formará el complejo antígeno-anticuerpo, evitando la aparición de una línea de color en la región 'T', lo que indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígeno del RSV por encima del límite de detección, se formará el complejo antígeno-anticuerpo, dando lugar a la aparición de una línea de color en la región 'T', lo que indica un resultado positivo. La validez de la prueba se confirma por la aparición de una línea de color en la región 'C'. Esta línea corresponde al control interno del procedimiento e indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y que la prueba se ejecutó correctamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado de nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos de detección anti-RSV, anticuerpos de captura anti-RSV y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de utilizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si su empaque está dañado.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.
- Se recomienda no haberse lavado los dientes o ingerido alimentos o bebidas azucaradas, con colorantes artificiales o con alto valor calórico al menos 4 horas antes de la recolección de muestra.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su empaque sellado a temperatura ambiente (15-30 °C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en su empaque.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Hisopo
- Tubo colector
- Tapa cuentagotas
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Instructivo de uso

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Gradilla
- Contenedor RPBI
- Pañuelos desechables
- Opcionales**
- Dispositivo de aspiración

Recolección de muestra

Exudado nasofaríngeo:

- Empleando un pañuelo retire el exceso de mucosa de la cavidad nasal, esto para eliminar la suciedad y evitar interferencias.
- Retire la envoltura protectora del hisopo nasofaríngeo. No manipule el cabezal del hisopo, tómelo del extremo del mango de plástico.
- Identifique el orificio nasal con la vía más despejada.
- Ingrese el hisopo de forma gentil hasta que se produzca una resistencia al avance, esto sucede a la altura de la cavidad nasofaríngea superior aproximadamente 2.5 cm después de la entrada del orificio nasal (ver imagen 1).
- Rote el hisopo 5 veces o más contra la pared nasal.
- Retire lentamente el hisopo del orificio nasal.
- Usando el mismo hisopo, repita el procedimiento en el orificio nasal restante.



Imagen 1. Ubicación de hisopo

Aspirado nasal:

- Conecte el catéter de aspiración requerido a una trampa recolectora, la cual haya sido previamente conectada a un dispositivo de succión. Posteriormente, inserte el catéter en una cavidad nasal e inicie el dispositivo para recolectar la muestra.
- Sumerja el hisopo dentro de la muestra nasal recolectada, procurando que el espécimen se adhiera al cabezal del hisopo lo máximo posible.

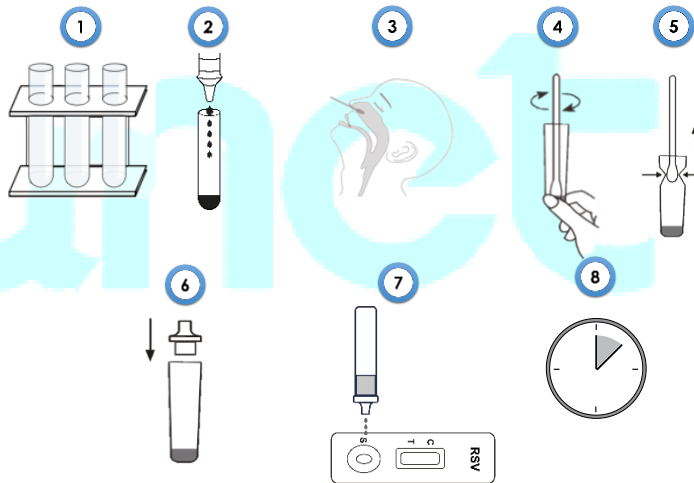
Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- Para un mejor desempeño, analice las muestras inmediatamente después de su recolección, ya que una manipulación, almacenamiento o transporte incorrecto pueden generar desviaciones en los resultados.
- Si por alguna razón no puede analizar la muestra inmediatamente, almacene el hisopo en un tubo de transporte, sellado adecuadamente. La muestra puede permanecer así hasta 1 hora previo al análisis a temperatura ambiente. Si se excede este tiempo, la muestra dejará de ser viable y se deberá realizar una nueva recolección de muestra.

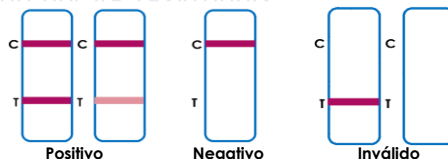
Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y buffer alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de su uso. Utilice una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Coloque un tubo colector verticalmente sobre una gradilla.
2. Agregue 10 gotas de buffer al tubo colector (aproximadamente 400 µL).
3. Obtenga la muestra como se indicó en la sección 'Recolección de muestra'.
4. Coloque el hisopo con la muestra en el tubo colector y gírelo vigorosamente.
5. Retire el hisopo apretando el tubo colector contra este y deseche el hisopo en un contenedor de RPBI.
6. Coloque la tapa cuentagotas en la parte superior del tubo colector.
7. Saque la prueba de su empaque y deposite 3 gotas (aproximadamente 120 µL) de la preparación en el pozo 'S' del cartucho. Evite mover o manipular la prueba después de agregar la muestra. Nota: Si después de 2 minutos no se observa migración agregue 1 gota más del preparado al pozo 'S' del cartucho.
8. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 15 minutos. No interprete el resultado después de los 20 minutos. Nota: Debido a la susceptibilidad del buffer a ser contaminado por condiciones ambientales, se recomienda no usarlo 3 meses después de haber sido abierto.



Interpretación de resultados



(Consulte la imagen de anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región 'C' y otra línea de color en la región 'T'. Nota: La intensidad del color de la línea en la región 'T' puede variar, por lo que cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región 'C'. No aparece ninguna línea de color en la región 'T'.

INVÁLIDO: La línea de la región 'C' no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar la prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

La prueba incluye un control interno del procedimiento. Una línea de color aparece en la región 'C' confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

1. Funcionalidad de reactivos:

- Al igual que todas las pruebas rápidas, la funcionalidad del buffer incluido con esta prueba puede verse afectada por la contaminación ambiental, considere el tiempo establecido (3 meses después de ser abierto) para obtener resultados óptimos.

2. Uso Profesional e Interpretación:

- Esta prueba es exclusivamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- Los resultados deben ser interpretados por personal calificado y no deben utilizarse como único criterio para el diagnóstico del virus sincitial respiratorio (RSV).
- El resultado obtenido debe considerarse en conjunto con toda la información clínica, sintomatología y antecedentes del paciente.
- El resultado de esta prueba corresponde únicamente al analito detectado y no indica ni descarta la presencia de otros patógenos.

3. Alcance del Resultado (Cualitativo):

- Esta es una prueba cualitativa; no proporciona el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos de RSV.
- La prueba detecta la presencia del analito en muestras de exudado nasofaríngeo o aspirado nasal. El rendimiento depende directamente de la concentración de analito presente en la muestra.

4. Resultados Negativos y Seguimiento:

- Un resultado negativo no descarta infección por RSV. Esto puede ocurrir si:
 1. La concentración del analito es inferior al límite de detección del ensayo.
 2. La muestra fue recolectada fuera del periodo óptimo de detección (ventana inmunológica).
- Si la sintomatología persiste, se recomienda realizar pruebas adicionales mediante métodos confirmatorios.

5. Factores Técnicos:

- Muestras:
 1. El exceso de sangre o moco en la muestra puede interferir con el desempeño de la prueba y puede arrojar un resultado falso negativo.
 2. Es normal que muestras viscosas tarden más en migrar.
 3. Demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
- Productos: El uso de aerosoles nasales de venta libre y/o recetados en altas concentraciones puede interferir con los resultados, arrojando resultados inválidos o incorrectos.
- Validación: El desempeño de la prueba solo está garantizado bajo las condiciones e instrucciones mencionadas en este instructivo.

Valores esperados

La prueba rápida RSV NET (exudado nasofaríngeo o aspirado nasal) se ha comparado con una prueba líder de RT-PCR para la detección del virus sincitial respiratorio. Se obtuvo una precisión superior al 95%.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

La prueba fue utilizada para procesar muestras de exudado nasofaríngeo y aspirado nasal obtenidos de pacientes que habían presentado sintomatología causada por el RSV y relativamente sanos. Los resultados fueron confirmados por medio de una prueba comercial líder de RT-PCR, se obtuvo lo siguiente:

Método		RT-PCR		Resultados totales
RSV NET	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	90	2	92
	Negativo	2	146	148
Resultados totales		92	148	240

Sensibilidad: 97.83% (95% IC: 95.09%-99.05%)

Especificidad: 98.65% (95% IC: 96.24%-99.52%)

Precisión: 98.33% (95% IC: 95.79%-99.35%)

IC: Intervalos de confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada realizando 20 réplicas por cada concentración: 0 ng/mL, 150 ng/mL, 300 ng/mL de antígenos del RSV. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada realizando 20 réplicas con 3 lotes diferentes en 2 días distintos empleando las mismas concentraciones. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Sustancias interferentes

La prueba se evaluó con diferentes sustancias a las concentraciones indicadas en la siguiente tabla. Ninguna presentó interferencia.

- Sangre (1% v/v)
- Cloruro de sodio (5% v/v)
- Oximetazolina (15% v/v)
- Fluconazol (5% v/v)
- Oseltamivir (0.5% v/v)
- Tobramicina (0.0004% v/v)

Reactividad cruzada

La prueba se evaluó con elementos de dos distintos paneles: verificación respiratoria 2 NATrol™ 'NATRP2-BIO' y NATrol 'SARS-CoV-2' variante, ninguno mostró reactividad cruzada.

'NATRP2-BIO'	'SARS-CoV-2'
• Adenovirus tipo 1, 3 y 31 • B. <i>parapertussis</i> (A747) • B. <i>pertussis</i> (A639) • C. <i>pneumoniae</i> (CWL-029) • Coronavirus 229E • Coronavirus HKU-1 • Coronavirus NL63 • Coronavirus OC43 • Influenza A 2009 H1N1pdm (A/NY/02/09) • Influenza A H1N1 (A/ NewCaledonia/20/99) • Influenza A H3 (A/Brisbane/10/07) • Influenza tipo B • M. <i>pneumoniae</i> (M129) • Metapneumovirus 8 (Peru6-2003) • Rhinovirus 1A • Virus Parainfluenza tipo 1, 2, 3 y 4	• B.1.17 (Alfa) • B.1.361 (Beta) • B.1.617.2 (Delta)

Referencias

- [1]. García Cervantes, A., Tirado Mendoza, R., & Ambrosio, J. R. (2018). ¿Es la patogenicidad del virus sincitial respiratorio humano un factor de riesgo para el desarrollo de asma infantil?. Revista de la Facultad de Medicina (México), 61 (3), 17-30.
- [2]. Organización Mundial de la Salud. (2023). Virus respiratorio sincitial (VRS). [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/respiratory-syncytial-virus-\(rsv\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/respiratory-syncytial-virus-(rsv))
- [3]. Li, Y., Wang, X., Blau, D. M., Caballero, M. T., Feikin, D. R., Gill, C. J., Madhi, S. A., Omer, S. B., Simões, E. A. F., Campbell, H., Pariente, A. B., Bardach, D., Bassat, Q., Casalegno, J. S., Chakhunashvili, G., Crawford, N., Danilenko, D., Do, L. A. H., Echavarría, M., Gentile, A., ... RESCEU investigators (2022). Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis. Lancet (London, England), 399(10340), 2047-2064. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00478-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00478-0)
- [4]. Marimón, J. M., & Navarro-Marí, J. M. (2017). Métodos de diagnóstico rápido de las infecciones respiratorias [Rapid diagnostic test for respiratory infections]. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 35(2), 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.11.007>

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Agente de diagnóstico para uso in vitro		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar