

RSV NET

(Exudado nasofaríngeo, aspirado e hisopado nasal)

RSV 0225/01 **Registro Sanitario: 2110R2024 SSA**

REF DMVSR01

Uso deseado

RSV NET es una prueba rápida fundamentada en 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 e hisopado nasal.

Resumen

El virus sincitial respiratorio (RSV) 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 fónimos (objetos capaces de transmitir un patógeno), la infección ingresa al cuerpo a través de la nariz, la boca o los ojos [2].

Globalmente, se estima que el VRS 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 moqueo, apetito reducido, tos, estornudos y fiebres sibilancias (fiebre con estrechamiento de las vías respiratorias), aunque también puede causar infecciones más 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 bajos recursos. El cultivo celular 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. Hasta ahora no se conoce un esquema efectivo para el tratamiento de la infección. El diagnóstico rápido de las infecciones de vías respiratorias permite un mejor manejo clínico del paciente, adoptar medidas de salud pública y controlar posibles brotes [4].

Principio

La prueba RSV NET para la detección cualitativa de los antígenos del virus sincitial respiratorio (RSV) en muestras de exudado nasofaríngeo o aspirado nasal e hisopado nasal está fundamentada en un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El cartucho tiene una membrana con dos regiones: una de prueba (T) y una de control (C). Dicha membrana posee un 'conjugado' conformado por partículas de oro coloidal e impresos anticuerpos de captura 'línea de prueba' y anticuerpos anti-ratón 'línea control'. 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 tiene concentraciones de antígeno del virus sincitial respiratorio (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 de prueba (T), esto 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 generando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un resultado positivo. La prueba incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos anti-RSV y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

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

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran 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 la bolsa está dañada.
- 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.
 - El almacenamiento, transporte o colecta de muestras realizados de forma inadecuada, puede generar resultados falsos negativos.
 - Asegúrese de utilizar una cantidad adecuada de muestra para la prueba. Demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
 - Es normal que muestras viscosas tarden más en migrar.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

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

Materiales

Suministrados:

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

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Gradilla
- Dispositivo de aspiración
- Contenedor RPBI

Recolección de muestra

Muestra de aspirado nasal:

- Conecte el catéter de aspiración a una trampa de aspiración, la cual, previamente fue conectada a un dispositivo de aspiración. Posteriormente inserte el catéter a una cavidad nasal e inicie el dispositivo de aspiración, recoja la muestra.
- Sumerja un hisopo estéril dentro de la muestra nasal recolectada, procurando que el espécimen se adhiera a la esponja del hisopo lo máximo posible.

Muestra de exudado nasofaríngeo:

- Tome un hisopo nasal e identifique el orificio nasal con la vía más despejada.
- Introduzca el hisopo de forma gentil en el orificio nasal hasta que produzca una resistencia al avance, esto sucede a la altura de la cavidad faringea superior (aproximadamente 2.5 cm después de la entrada del orificio nasal).
- 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.

Muestra de hisopado nasal (sugerido en infantes):

- Tome un hisopo nasal e identifique el orificio nasal con la vía más despejada.
- Introduzca el hisopo de forma gentil en el orificio nasal sin ir más allá de la cavidad nasal.
- 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.

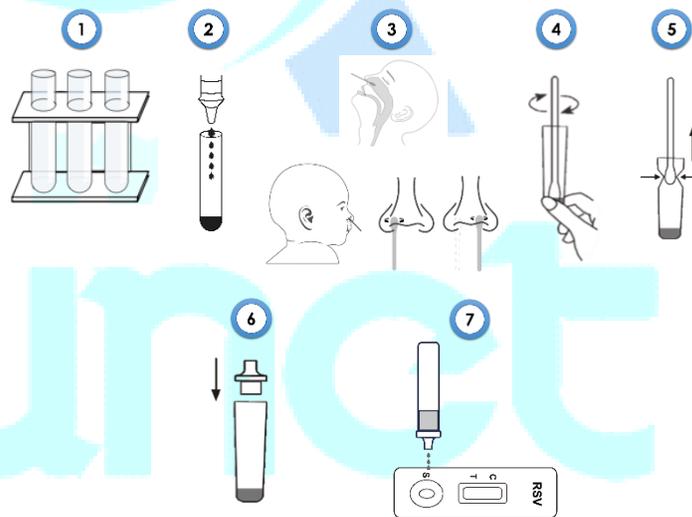
Almacenamiento de la muestra

- Realice la prueba inmediatamente después de su recolección.

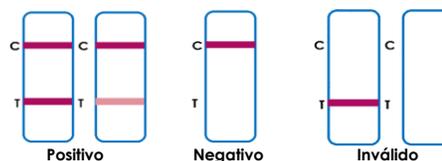
Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y reactivo de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de su uso. Utilice una superficie plana.

1. Coloque un tubo colector verticalmente sobre una gradilla.
2. Agregue 10 gotas del reactivo de corrimiento 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 del gotero en la parte superior del tubo colector.
7. Agregue 3 gotas (aproximadamente 120 µL) de la mezcla en el pozo (S) del cartucho y programe un temporizador a un tiempo máximo de 15 minutos.
8. Interprete los resultados una vez hayan transcurrido los 15 minutos. Nota: No interprete los resultados después de 20 minutos.



Interpretación de resultados



(Consulte la imagen de anterior)

NEGATIVO: Una línea de color aparece en la región control (C). Ninguna línea de color aparece en la región de prueba (T). Este resultado indica que no se detectaron antígenos del RSV.

POSITIVO: Dos líneas distintas de color aparecen. Una línea de color aparece en la región control (C) y otra línea de color aparece en la región de prueba (T). Este resultado indica la presencia de antígenos del RSV por encima del límite de detección.

NOTA: La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar, por lo que cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

INVÁLIDO: La línea de color en la región control (C) no aparece. Cantidad de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva. Si el problema persiste suspenda el uso de la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región control (C) confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se muestran controles positivos o negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

Limitaciones

1. La prueba RSV NET es solo para uso profesional *in vitro*.
2. Esta prueba solo debe usarse para la detección del virus sincitial respiratorio (RSV) en muestras de exudado nasofaríngeo o aspirado nasal. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración del RSV pueden determinarse mediante esta prueba cualitativa.
3. Como con todas las pruebas de laboratorio, los resultados deben interpretarse junto con toda la información clínica disponible para el médico.
4. La prueba RSV NET es una prueba cualitativa de fase aguda. La muestra recolectada puede contener títulos de antígeno por debajo del umbral de la sensibilidad de la prueba, por lo que un resultado negativo no excluye la infección por el RSV.
5. El exceso de sangre o moco en la muestra puede interferir con el rendimiento de la prueba y puede arrojar un resultado falso negativo, procure utilizar muestras sin turbidez.
6. La precisión de la prueba depende de la calidad de la muestra recolectada. Los falsos negativos pueden ser el resultado de una recolección o almacenamiento incorrectos de la muestra.
7. El uso de aerosoles nasales de venta libre y/o recetados en altas concentraciones puede interferir con los resultados, arrojando resultados inválidos o incorrectos.

Valores esperados

La prueba 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 presentación

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

La prueba RSV NET fue utilizada para procesar muestras de exudado nasofaríngeo y aspirado nasal obtenidas de pacientes (>18) que habían presentado sintomatología causada por el RSV, solo 146 muestras pertenecían a individuos sanos. Los resultados fueron confirmados por medio de una prueba comercial líder de RT-PCR, a continuación, se muestran los resultados obtenidos de la comparación:

Método	Resultados	RT-PCR		Resultados totales
		Positivo	Negativo	
RSV NET	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

La prueba RSV NET fue utilizada para procesar muestras de hisopado nasal en pacientes (<18) que habían presentado sintomatología relacionada al RSV, solo muestras pertenecían a individuos sanos. Los resultados fueron confirmados por medio de una prueba comercial líder de RT-PCR, a continuación, se muestran los resultados obtenidos de la comparación:

Método	Resultados	RT-PCR		Resultados totales
		Positivo	Negativo	
RSV NET	Positivo	63	8	71
	Negativo	6	90	93
Resultados totales		66	98	164

Sensibilidad: 91.30% (95% IC: 85.95%-94.74%)

Especificidad: 96.77% (95% IC: 92.79%-98.59%)

Precisión: 94.44% (95% IC: 89.78%-97.05%)

IC: Intervalos de confianza

Precisión Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando solución de corrimiento como muestra, se realizaron 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 utilizando solución de corrimiento como muestra, se realizaron 20 réplicas utilizando 3 lotes diferentes en 2 días distintos 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.

Sustancias interferentes

La prueba RSV NET fue evaluada con diferentes sustancias utilizando las concentraciones indicadas en la siguiente tabla, se realizaron 10 réplicas por cada sustancia utilizando solución de corrimiento y saliva. Ninguna presentó interferencia.

- Sangre (1% v/v)
- Cloruro de sodio (5% v/v)
- Oximetazolina (1.5% v/v)
- Fluconazol (5% v/v)
- Oseltamivir (0.5% v/v)
- Tobramicina (0.0004% v/v)1

Reactividad cruzada

La prueba RSV NET fue evaluada con diferentes elementos de dos paneles: verificación respiratoria 2 NATrol™ 'NATRVP2-BIO' y de variante NATrol 'SARS-CoV-2', se incluyeron un control positivo a antígenos del RSV y uno negativo. Se realizaron 20 réplicas por cada uno, ninguno presentó reactividad cruzada.

Panel de verificación respiratoria 2 NATrol™ 'NATRVP2-BIO'	Panel de variante NATrol 'SARS-CoV-2'
<ul style="list-style-type: none"> • Adenovirus tipo 1 • Adenovirus tipo 3 • Adenovirus tipo 31 • B. paraptussis (A747) • B. pertussis (A639) • C. pneumoniae (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. pneumoniae (M129) • Metapneumovirus 8 (Peru6-2003) • Rhinovirus 1A • Virus Parainfluenza tipo 1, 2, 3 y 4 	<ul style="list-style-type: none"> • B.1.17; Variante Alfa • B.1.361; Variante Beta • B.1.617.2 Variante 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]. Am J Respir Crit Care Med Vol. 191, P3-P4, 2015 American Thoracic Society-<https://www.thoracic.org/patients/patient-resources/resources/respiratory-synctial-virus-rsv.pdf>
- [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
IVD	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>	REF	Número de catálogo
	Almacenar entre 2 - 30 °C	LOT	Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar