

USO INDICADO

La prueba rápida para la detección de RSV es un inmunoensayo cualitativo para la detección de antígenos del virus sincial respiratorio (RSV) en muestras de hisopados nasales/nasofaríngeos y en lavados/aspirados nasales. Esta prueba es útil para un diagnóstico diferencial de infección por RSV. Resultados negativos no excluyen que haya una infección por RSV, y deben ser confirmados por cultivos celulares o ensayos moleculares.

INTRODUCCION

El RSV es un virus de RNA de cadena simple negativa de la familia de los Paramixoviridae. Es el agente causal de infección viral altamente contagiosa y aguda del tracto respiratorio. En todo el mundo, el RSV contribuye a la muerte de hasta más de 1.000.000 de bebés y niños por debajo de los 5 años. Es también la mayor causa de enfermedad intrahospitalaria en niños hospitalizados por otras razones. Entre los niños hospitalizados con infección por RSV la tasa de mortalidad se estima tan baja como 0,3% a 1,0%. y en el rango de 2,5% a 4,0% para niños con enfermedad cardíaca o pulmonar subyacentes. La infección por RSV confiere solo inmunidad protectora limitada. Así, las personas pueden reinfectarse repetidas veces y desarrollar serias enfermedades a lo largo de su vida.

El RSV tiene un solo serotipo, y se divide en dos subtipos antigénicos, A y B. Ambos grupos circulan simultáneamente en la comunidad. El subtipo B se caracteriza como las cepas asintomáticas del virus que la mayoría de la población experimenta. La enfermedad clínica más grave involucra a las cepas del subtipo A, la cual tiende a ser predominante en la mayoría de los brotes. El RSV puede sospecharse con base en la época del año de la infección. La prevalencia por lo general coincide con la temporada de gripe de invierno.

El RSV puede ser detectado en el laboratorio utilizando secreciones respiratorias. La sensibilidad del aislamiento del virus de las secreciones respiratorias en cultivo celular varía entre los laboratorios. Ensayos por RT-PCR deben ser considerados cuando se analizan adultos, pues suele haber menos carga viral en las muestras de secreciones respiratorias. A pesar de que son útiles para las pruebas serológicas de investigación, los test serológicos son menos frecuentemente usados para el diagnóstico. La seroconversión no ocurre por al menos 2 semanas, y puede requerir de 4 a 6 semanas. La mayoría de los laboratorios clínicos utilizan actualmente pruebas de detección de antígenos. Las pruebas de detección de antígenos y los cultivos son generalmente confiables en niños pequeños, pero menos útiles en niños mayores y adultos. La prueba rápida para la detección de RSV es un inmunoensayo simple de flujo lateral para la detección de antígenos de RSV. Y proveerá un diagnóstico presuntivo de infección por RSV.

PRINCIPIO

La prueba rápida para la detección de RSV detecta antígenos de RSV de a través de una interpretación visual de desarrollo de color. Los anticuerpos Anti-RSV se encuentran inmovilizados en la región de la muestra de la membrana de nitrocelulosa. Una muestra de secreción respiratoria se añade al vial de

extracción con el buffer para liberar los antígenos de RSV. Durante el análisis, los antígenos extractados se unen a los anticuerpos conjugados anti-RSV a las partículas coloreadas en la membrana. Mientras la mezcla migra a través de la membrana por capilaridad e interactúa con los reactivos en la membrana, el complejo será capturado por el anticuerpo anti-RSV en la zona de detección. El exceso de partículas coloreadas es capturado en la zona interna de control.

La presencia de una línea coloreada en la zona indica un resultado positivo, mientras que la ausencia indica un resultado negativo. La presencia de una línea coloreada en la zona de control de la membrana sirve como procedimiento de control, indicando que un correcto volumen de muestra ha sido utilizado y que la prueba funcionó correctamente.

MATERIALES

Materiales suministrados

Caja conteniendo:

- 20 cassettes
- 20 tubos de extracción
- 2 frascos conteniendo buffer
- 20 goteros con filtro
- 20 hisopos estériles
- 1 soporte
- 1 Ficha técnica

Material requerido no suministrado

- Cronometro
- Pipetas de transferencia

ADVERTENCIAS

- Solo para Diagnóstico de Uso "In Vitro". No utilizar después de su fecha de vencimiento.
- No utilizar el dispositivo si el envase se encuentra dañado. No reutilizar los dispositivos.
- No comer, beber o fumar en el área de trabajo mientras las muestras están siendo procesadas.
- Utilice protección adecuada (guardapolvo, guantes descartables y protección ocular) cuando las muestras estén siendo procesadas.
- Este kit contiene productos de origen animal. El certificado del estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos de transmisión. Considerar todas las muestras como potencialmente infecciosas. (no ingerir ni inhalar). Observe las precauciones establecidas contra los riesgos microbiológicos (bioseguridad) y siga los procedimientos estándares establecidos para el desecho adecuado de las muestras.
- Para evitar contaminación cruzada de las muestras utilice un nuevo tubo recolector para cada muestra obtenida.
- La humedad y la temperatura pueden afectar los resultados.
- La prueba, una vez utilizada debe descartarse de acuerdo con las regulaciones locales.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El kit debe ser almacenado en su envase original a temperatura ambiente o

refrigerado (entre 2 y 30° C) hasta la fecha de vencimiento impresa en el envase.

- El dispositivo debe permanecer en su envase hasta ser utilizado.
- NO CONGELAR.
- Los dispositivos contienen material de origen animal, por lo que deben ser tratados como potencialmente infecciosos.
- Evitar la contaminación de los componentes de este kit. No utilizar si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitado.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRAObtención de las muestras:

Las muestras aceptables para ser analizadas con el kit incluyen muestras de hisopados nasales/nasofaríngeos aspirados o lavados nasales. No utilizar muestras con evidencia de contaminación con sangre, esto puede interferir en la interpretación de los resultados. Utilice muestras frescas recientemente recolectadas para una mayor performance. Para asegurar óptimos resultados utilice solo los hisopos provistos en el kit.

Hisopado nasal

Introduzca el hisopo en la fosa nasal donde se visualice mayor cantidad de fluido, si la secreción no es visible, empuje suavemente hasta encontrar resistencia a nivel de los cornetes (menos de un centímetro dentro de la fosa nasal), y rote el hisopo contra las paredes de la fosa nasal por unos instantes. Retire lentamente el hisopo mientras continúa rotándolo.

Nota: en pacientes cuya cavidad nasal esté seca, humedezca el hisopo con solución fisiológica estéril (no provista en este kit) para proceder a la toma de muestra.

Hisopado nasofaríngeo

Introduzca el hisopo en la fosa nasal donde se visualice mayor cantidad de fluido. Mantenga el hisopo cerca del tabique nasal, sobre el piso de la fosa mientras empuja suavemente hacia la nasofaringe posterior. Rote el hisopo varias veces.

Lavado nasal

Con la cabeza del paciente en hiperextensión, irrigue en una fosa nasal solución fisiológica estéril con una jeringa. Utilice una mínima cantidad de solución salina, ya que una cantidad excesiva puede diluir el antígeno en la muestra. Para recolectar el lavado nasal coloque un recipiente limpio y seco directamente debajo de la nariz, presionando levemente el labio superior. Incline la frente del paciente permitiendo que el fluido corra hacia afuera de la fosa nasal hacia el recipiente contenedor. Repita la operación con la otra fosa nasal.

Nota: la solución salina, jeringa y recipiente de muestra no son provistos en el kit.

Aspirado nasal

Introduzca un tubo de aspiración nasal dentro de la cavidad nasal. Conecte otro tubo al dispositivo de aspiración formando este una presión negativa. aspire el fluido nasal. Hidrate un hisopo con el aspirado nasal obtenido.

Nota: el dispositivo de aspiración nasal no está provisto en el kit.

Se recomienda un volumen de 1-3 ml. de muestra para aspirados/lavados nasales.

Transporte y almacenamiento de la muestra

Para lavado nasal/aspirado, se recomienda un volumen de 1-3 ml. Si se utiliza medio de transporte, se recomienda 1 ml. como mínima dilución de la muestra. Las muestras deben ser procesadas lo más rápido posible luego de su recolección.

Alternativamente, las muestras pueden ser refrigeradas (2-8°), o mantenidas a temperatura ambiente (15-30°), en un lugar limpio y seco, en un recipiente cerrado por hasta 8 hs. antes de ser analizado. Las muestras de aspirados o lavados nasales pueden ser congeladas (-70°) por un mes.

PROCEDIMIENTO

Lleve el cassette, la muestra y/o los controles a temperatura ambiente (15-30° C) antes de su uso.

1. Para muestras de hisopados, retire el cassette del envase y apóyelo en una superficie limpia y nivelada. Identifique el dispositivo con los datos del paciente. Para mejores resultados, la prueba debe realizarse en el transcurso de una hora.

2. Mezcle suavemente el buffer de extracción. Coloque 10 gotas en un tubo de extracción.

3. Para hisopados nasales/nasofaríngeos:

a. Inserte el hisopo en el tubo de extracción. Mezcle bien y exprima el hisopo varias veces contra las paredes del tubo.

b. Rote la cabeza del hisopo contra las paredes internas del tubo para removerlo. Trate de que se libere la mayor cantidad de líquido posible. Descarte el hisopo.

Para lavados/ aspirados nasales:

a. Mezcle la muestra. No centrifugue, al remover material celular puede afectar adversamente la sensibilidad de la prueba.

b. Transfiera 300µl. de muestra al tubo de extracción usando una pipeta plástica.

4. Inserte el gotero con filtro en el tubo de extracción Invierta el tubo y coloque 2 gotas (aprox. 100µl.) de muestra en el pocillo del dispositivo (S).

5. Lea los resultados a los 15 min. No interpretar los resultados después de 20 min.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

C
T



POSITIVO:* Aparecen 2 líneas distintas coloreadas. Una línea de color debe aparecer en la región de la línea de Control (C) y otra línea debe estar en la región de línea de prueba (T).

*NOTA: la intensidad del color de la línea en la región de la muestra de la prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de analito presente en la muestra. Por lo tanto cualquier tonalidad de color en la región de la línea de prueba (T) debe ser considerada positiva.

C
T



NEGATIVO: Una línea de color aparecerá en la región de la línea de control (C). No debe aparecer ninguna línea coloreada en la región de prueba (T)



NO VALIDO: No aparece la línea coloreada en la región de la línea de control ©. Volúmenes insuficientes de muestra o técnicas de procedimiento incorrectos son las causas principales.

CONTROL DE CALIDAD

Control de Calidad Interno

Los controles de procedimiento están incluidos en la prueba. Una línea coloreada aparecerá en la región de la línea de control (C) el cual es un control interno de procedimiento. Esto confirma un volumen de muestra suficiente y un procedimiento correcto.

Control de Calidad Externo

Este kit no proporciona controles externos. Como buena práctica de laboratorio se recomienda el uso de materiales de control para verificar el funcionamiento apropiado del kit.

LIMITACIONES

- La prueba rápida para la detección de RSV esta únicamente indicada para el Diagnóstico de Uso "In Vitro". y debe ser usada para la detección cualitativa de antígenos de RSV únicamente.
- Luego de tratamientos con ciertos antibióticos, la concentración de antígenos de RSV puede disminuir a una concentración por debajo del límite de detección de la prueba. Por lo tanto, el diagnóstico debe ser efectuado con precaución durante tratamientos con antibióticos.
- El diagnóstico clínico no debe basarse únicamente en el resultado de la prueba rápida. Un contexto clínico completo del paciente debe ser incluido cuando se toma una decisión diagnóstica, teniendo en cuenta los síntomas clínicos y otra información relevante.
- Fallas en la interpretación del procedimiento e interpretación de los resultados pueden afectar el desempeño de la prueba y/o invalidar los resultados.
- Un efecto de prozona puede ocurrir cuando la intensidad del color de las líneas de muestra de la prueba decaen mientras que la concentración de antígeno aumenta. Si se sospecha de efecto de prozona, la dilución de la muestra puede incrementar la intensidad del color de la línea de muestra.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Desempeño clínico

Se llevo a cabo una evaluación clínica para comparar los resultados obtenidos con la prueba rápida para la detección de RSV y PCR.

Tabla: Prueba rápida RSV

Referencia	Positivo	Negativo	Total
Positivo	235	5	240
Negativo	3	447	450
Total	341	1033	690

Sensibilidad relativa:

97,9%(95.2%-99.1%)*

Especificidad relativa:

99,3%(98,1%-99,8%)*

Concordancia total:

98,8%(97,7%-99,4%)*

95% intervalo de confianza

REACTIVIDAD CRUZADA

Se estudio la reactividad cruzada con los siguientes organismos en concentraciones de 1,0 x 10⁹ org/ml. Se hallaron negativos cuando se analizaron con la prueba rápida para la detección de RSV. (Secreción nasal).

Virus Influenza A/B/C

Enterovirus

Virus Mumps

Corynebacterium diptheria

Streptococcus pneumoniae

Klebsiella pneumoniae

Mycoplasma pneumoniae

Candida albicans

Blastomyces dermatitidis

Cryptococcus neoformans

Rhinovirus

Adenovirus

Norovirus

Streptococcus pyogenes

Bordetella pertussis

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa

Mycobacterium tuberculosis

Coccidioides immitis

Coronavirus

Virus Parainfluenza

Haemophilus influenza

Moraxella catarralis

Legionella pneumophila

Burkholderia cepacia

Chlamydia pneumoniae

Histoplasma capsulatum

Aspergillus fumigatus

BIBLIOGRAFÍA

- Course BS3035: Virology, University of Leicester. <http://www-micro.msb.le.ac.uk/3035/Paramyxoviruses.html>.
- Respiratory Syncytial Virus (RSV): Overview, Treatment, and prevention Strategies, Mark J. Polak, MD.
- Macartney K. et. Al. Nosocomial Respiratory Syncytial Virus Infections. The Cost- Effectiveness and Cost-Benefit of Infection Control Pediatrics Vol. 106 No. 3 Sept 2000, pp. 520-526. <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/content/full/106/3/520>.
- Thompson W. et. Al. Mortality Associated With Influenza and Respiratory Syncytial Virus in the United States. JAMA, January 8, 2003-Vol 289, No.2.
- Moler F.W. et. Al. Respiratory syncytial virus morbidity and mortality estimates in congenital heart disease patients, a recent experience. Crit. Care Med. 1992, Oct. 20(10): 1406-13.
- Guidelines for Preventing Health-Care-Associated Pneumonia, 2003, page 43.
- Mark J. Polak, MD, Department of Pediatrics, West Virginia University School OF Medicine. Morgantown, WV, USA.

IMPORTADOR/ ACONDICIONADOR

MONTEBIO S.R.L.

Vera 575, C.A.B.A. , Argentina

Tel. Fax: 4858-0636



Autorizado por ANMAT: PM-246-43

Director Técnico: Farm. Sebastián Antonicelli MN: 14853

Condicion de venta: Uso Profesional Exclusivo.

V-01