

APLICACIÓN

El sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS está diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos de tipo IgG contra el virus de las paperas en suero humano. Cuando se realiza esta prueba siguiendo estas instrucciones, los resultados y otra información clínica pueden ayudar en la determinación del estado inmune, así como en el diagnóstico de infecciones por paperas.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

Las paperas son una enfermedad aguda, generalmente autolimitada y contagiosa, con fiebre moderada de corta duración. La característica clínica más común es una parotiditis bilateral o unilateral. De forma secundaria, también pueden resultar afectados los testículos, los ovarios, el sistema nervioso central y, con menor probabilidad, el páncreas, los nervios periféricos, los ojos, el oído interno y otros órganos (1).

El periodo de incubación del virus de las paperas es de 18 a 21 días. Las infecciones se propagan a través de gotitas por la vía respiratoria superior. Entre el 25 y el 50 por ciento de todas las infecciones son silentes. Tras la infección, la inmunidad parece ser vitalicia; no obstante, pueden producirse reinfecciones silentes, aunque no es frecuente que esto suceda. Existe una vacuna de virus vivo atenuado que induce unos niveles de anticuerpos medibles inferiores a la infección natural (1,2). Tan sólo se conoce un tipo antigénico diferenciado de virus de las paperas. En algunas pruebas serológicas se ha detectado reactividad cruzada antigénica y respuestas a anticuerpos anamnésicos con otros paramixovirus, como el de la parainfluenza tipo 1 (1, 2 y 3).

Se han descrito muchas pruebas para la determinación de anticuerpos contra el virus de las paperas. Los ensayos tradicionales por neutralización viral, inhibición de la hemaglutinación (IH) o fijación del complemento (FC) tienen el inconveniente de ser demasiado laboriosos para tareas serológicas rutinarias, y además no cuentan con la sensibilidad y la fiabilidad deseables. Tanto la FC como la IH presentan una sensibilidad relativamente baja, y los anticuerpos con reactividad cruzada frente a otros paramixovirus pueden representar un problema (1,2). Las pruebas por inmunofluorescencia (IFA) y ELISA ofrecen la ventaja de ser sensibles y permitir la identificación por separado de los anticuerpos virales de tipo IgG e IgM tanto para la determinación del estado inmune como para el diagnóstico de la infección aguda (1,2).

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgG contra el virus de las paperas en suero humano. La creación de los pocillos sensibilizados de las tirillas de micropocillos de plástico se llevó a cabo mediante adsorción pasiva con antígeno. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

1. Los sueros de la prueba (debidamente diluidos) se incuban en micropocillos revestidos de antígeno. Los anticuerpos contra antígeno específico que existan en la muestra se fijarán al antígeno inmovilizado. La placa se lava para eliminar el anticuerpo no fijado y otros componentes séricos.
2. Se agrega anti-IgG humana de cabra conjugada con peroxidasa a los pocillos y se incuban la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo contra las paperas inmovilizado en la fase sólida del paso 1. Se lavan los micropocillos para eliminar el conjugado que no haya reaccionado.
3. Los micropocillos que contienen conjugado de peroxidasa inmovilizado se incuban con solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato por la peroxidasa produce un cambio de color. Transcurrido un tiempo, se detiene la reacción y se mide fotométricamente la intensidad del color de la solución. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra original analizada.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): controles, calibrador y SAVE Diluent®.**

Componente	Σ_{96}	Σ_{480}	Descripción
PLATE	1	5	Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con el antígeno del virus de las paperas desactivado (cepa Enders). Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.
CONJ	1	5	Conjugado: anti-IgG humana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano (específica de la cadena Fc) en frasco(s) de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.
CONTROL +	1	2	Control positivo (suero humano): vial(es) de 0,35 ml con tapón rojo.
CAL	1	4	Calibrador (suero humano): vial(es) de 0,5 ml con tapón azul.
CONTROL -	1	2	Control negativo (suero humano): vial(es) de 0,35 ml con tapón verde.
DIL SPE	1	4	Diluyente SAVE Diluent®: frasco(s) de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. NOTA: El diluyente SAVE Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.
SOLN TMB	1	5	TMB: frasco(s) de 15 ml de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
SOLN STOP	1	3	Solución para detener la reacción: frasco(s) de 15 ml con tapón rojo con H ₂ SO ₄ 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
WASHBUF 10X	1	5	Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Frasco(s) de 100 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X y Tween 20 (solución azul). NOTA: la solución 1X tendrá un pH de 7,2 ± 0,2.

NOTAS:

1. Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS: TMB, solución para detener la reacción y tampón de lavado. El diluyente SAVE Diluent® se puede usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS utilizando el n.º de producto 005CC.
2. El sistema de pruebas también contiene una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.

PRECAUCIONES

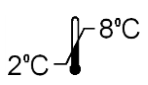
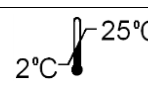
1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No inhale los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.

3. Los micropocillos de la placa ELISA no contienen microorganismos viables. No obstante, considere las tirillas **material con potencial riesgo biológico** y manipúlelas de manera acorde.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (6).
5. Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo.** Los reactivos no utilizados deben devolverse a temperatura de refrigeración inmediatamente después de su uso.
6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado o el sustrato. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente SAVe Diluent®, los controles, y el calibrador contienen azida sódica en una concentración de <0,1% (p/v). Se ha descrito la formación de azidas de plomo o cobre a partir de la azida de sodio en tuberías de laboratorio, lo cual puede causar explosiones al martillar las tuberías. Para evitarlo, enjuague bien el lavado con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
8. La solución para detener la reacción es TÓXICA por inhalación, por contacto con la piel o en caso de ingestión. Provoca quemaduras. En caso de accidente o si se siente mal, solicite asistencia médica inmediatamente.
9. La solución de TMB es NOCIVA. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
10. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
11. Limpie el fondo de la placa de todo residuo de líquido o huellas de los dedos que puedan alterar las lecturas de la densidad óptica (DO).
12. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
13. No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
14. La solución de TMB debe ser incolora o de color amarillo muy claro, verde muy claro o azul muy claro al utilizarla. La contaminación de TMB con el conjugado u otros oxidantes hará que la solución cambie de color prematuramente. No utilice la solución de TMB si tiene un color azul intenso.
15. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
16. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
17. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
18. Los instrumentos de vidrio reutilizables se deben lavar y enjuagar cuidadosamente para eliminar cualquier residuo de detergente.
19. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
20. No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación.
21. Permita que las tirillas de micropocillos y su soporte alcancen la temperatura ambiente antes de abrir el sobre protector, a fin de evitar la condensación en los micropocillos.
22. Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
23. Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
24. No utilice la placa ELISA si la tirilla indicadora del sobre de desecante ha cambiado de azul a rosado.
25. No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
26. No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Lector de micropocillos ELISA capaz de leer a una longitud de onda de 450 nm. **NOTA: Se podrá usar un lector de longitud de onda única (450 nm) o doble (450/620 - 650 nm). Es preferible la longitud de onda doble, puesto que el filtro de referencia adicional está configurado para disminuir posibles interferencias derivadas de anomalías capaces de absorber luz.**
2. Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
3. Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud entre 50 y 200 µl.
4. Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
5. Frasco de lavado o sistema de lavado de micropocillos.
6. Agua destilada o desionizada.
7. Probeta graduada de un litro.
8. Pipetas serológicas.
9. Puntas de pipeta desechables.
10. Toallas de papel.
11. Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
12. Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio)

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	<p>Tirillas de micropocillos revestidas: vuelva a sellar inmediatamente las tirillas sobrantes con el secante y devuélvalas al lugar adecuado de almacenamiento. Una vez abiertas, las tirillas son estables durante 60 días siempre y cuando las tirillas indicadoras del envase del desecante permanezcan de color azul.</p> <p>Conjugado: NO CONGELAR.</p> <p>Sistema de pruebas, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y diluyente SAVe Diluent® sin abrir</p>
	<p>Solución para detener la reacción: 2 - 25°C</p> <p>Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C.</p> <p>Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C</p>

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
2. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
3. Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica (4, 5). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.

- Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del laboratorio individual usar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (7).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25 °C).
- Determine el número de micropocillos necesarios. Calcule seis determinaciones de control o calibrador (un blanco de reactivo, un control negativo, tres calibradores y un control positivo) por serie. En cada prueba se debe analizar un blanco de reactivo. Compruebe que las configuraciones de controles y calibrador sean correctas en los requisitos del programa y del lector. Devuelva las tirillas no usadas a la bolsa resellable con desecante, séllela y devuélvala a su almacenamiento entre 2 y 8 °C.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Blanco	Paciente 3
B	Control negativo	Paciente 4
C	Calibrador	etc.
D	Calibrador	
E	Calibrador	
F	Control positivo	
G	Paciente 1	
H	Paciente 2	

- Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente SAVe Diluent®) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: el diluyente SAVe Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.**
- A cada micropocillo se añaden 100 µl de cada control diluido, calibrador y muestra de paciente. Compruebe que las muestras estén bien mezcladas. Utilice una punta de pipeta diferente para cada muestra.
- Añada 100 µl de diluyente SAVe Diluent® al micropocillo A1 como blanco de reactivo. Compruebe que la configuración del micropocillo del blanco de reactivo sea correcta en los requisitos del programa y del lector.
- Incuba la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
- Lave las tirillas de micropocillos 5 veces.
 - Procedimiento de lavado manual:**
 - Agite la placa para eliminar el líquido de todos los micropocillos.
 - Llene cada micropocillo con solución tampón de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire atrapadas en los micropocillos.
 - Repita los pasos 1. y 2. para un total de 5 lavados.
 - Agite la placa para eliminar la solución de lavado de todos los micropocillos. Invierta la placa sobre una toalla de papel y dele unos golpes secos para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos. Inspeccione visualmente la placa para asegurarse de que no queden residuos de la solución de lavado. Recoja la solución de lavado en un recipiente desechable y trátela con desinfectante al final de la jornada de trabajo.
 - Procedimiento de lavado automático:**
Si está utilizando un sistema automático de lavado, ajuste el volumen dispensado en 300-350 µl/micropocillo. Ajuste el ciclo de lavado para 5 lavados, sin interrupción entre los mismos. En caso necesario, se puede extraer la placa de micropocillos del lavador, invertirla sobre una toalla de papel y golpearla con firmeza para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos.
- Agregue 100 µl de conjugado a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
- Incuba la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
- Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
- Agregue 100 µl de TMB a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
- Incuba la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) entre 10 y 15 minutos.
- Detenga la reacción añadiendo 50 µl de la solución para detener la reacción a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregó la TMB. Las muestras positivas cambiarán de azul a amarillo. Después de agregar la solución para detener la reacción, dé unos cuantos golpes secos a la placa para asegurarse de que las muestras estén bien mezcladas.
- Ajuste la longitud de onda del lector de micropocillos a 450 nm y mida la densidad óptica (DO) de cada micropocillo con respecto al blanco de reactivo. Lea la placa en los 30 minutos posteriores a la adición de la solución para detener la reacción.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ABREVIADO

- Diluya el suero 1:21.
- Añada la muestra diluida al micropocillo - 100 µl/micropocillo.
- Incube durante 25 ± 5 minutos.
- Lave.
- Añada el conjugado - 100 µl/micropocillo.
- Incube durante 25 ± 5 minutos.
- Lave.
- Añada la TMB - 100 µl/micropocillo.
- Incube durante 10 - 15 minutos.
- Añada la solución para detener la reacción - 50 µl/micropocillo - Mezcle.
- LEA en el transcurso de 30 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

- El calibrador se debe analizar por triplicado cada vez que se realiza esta prueba. También se deben incluir un blanco de reactivo, el control negativo y el control positivo.
- Calcule la media de los micropocillos de los tres calibradores. Si alguno de los tres valores difiere de la media más del 15%, deséchelo y calcule la media de los dos valores restantes.
- El valor medio de la DO del calibrador, del control negativo y del control positivo deben quedar dentro de los intervalos siguientes:

Intervalo de DO

Control negativo	≤ 0,250
Calibrador	≥ 0,300
Control positivo	≥ 0,500

- El valor de la DO para el control negativo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≤ 0,9.

- b. El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser $\geq 1,25$.
 - c. Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
4. Los controles negativo y positivo sirven para verificar fallos sustanciales de los reactivos, pero no aseguran la precisión en el límite de referencia de la prueba.
 5. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.
 6. Consulte el documento C24 del CLSI: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures (Control de calidad estadístico para procedimientos de determinación cuantitativa) para obtener información sobre las prácticas de control de calidad apropiadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. Cálculos

- a. **Factor de corrección:** El fabricante ha determinado un valor de DO como límite de referencia para las muestras positivas y lo ha correlacionado con el calibrador. El factor de corrección (FC) permite calcular el límite de referencia de las muestras positivas. Asimismo, permite corregir las pequeñas variaciones cotidianas de los resultados de las pruebas. El factor de corrección se determina para cada lote de componentes del kit y está impreso en la etiqueta de componentes que se encuentra en la caja del sistema de pruebas.
- b. **Límite de referencia de la DO:** Para obtener el límite de referencia de la DO, multiplique el FC por la media de la DO del calibrador determinado anteriormente.
($FC \times \text{media de DO del calibrador} = \text{límite de referencia de la DO}$)
- c. **Valores índice/cocientes de DO:** Calcule el valor índice/cociente de DO de cada muestra dividiendo su valor de DO por el límite de referencia de la DO del paso b.

Ejemplo:	DO media del calibrador	=	0,793
	Factor de corrección (FC)	=	0,25
	Límite de referencia de la DO	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$
	DO de muestra desconocida	=	0,432
	Valor índice/cociente de DO de la muestra	=	$0,432/0,198 = 2,18$

2. **Interpretaciones:** Los valores índice/cocientes de DO se interpretan como se indica a continuación:

	Valor índice/cociente de DO
Muestras negativas	$\leq 0,90$
Muestras dudosas	0,91 a 1,09
Muestras positivas	$\geq 1,10$

- a. Un cociente de $DO \leq 0,90$ indica que no se ha detectado una cantidad significativa de anticuerpos de tipo IgG contra el virus de las paperas. Un resultado no reactivo indica que no hay, ni hubo, una infección anterior por el virus de las paperas. Se presupone que tales pacientes no son inmunes y, por tanto, son susceptibles de sufrir una infección primaria. En individuos infectados, es posible que se obtengan resultados no reactivos en las fases tempranas de la seroconversión. Si se sospecha de la existencia de la infección, obtenga una muestra adicional entre tres y cinco semanas más tarde para volver a realizar la prueba.
- b. Un cociente de $DO \geq 1,10$ indica que se han detectado anticuerpos de tipo IgG específicos contra el virus de las paperas. Una prueba reactiva indica la existencia de una infección actual o anterior por virus de las paperas, o una vacunación anterior contra el mismo. Los resultados de este ensayo son cualitativos. La magnitud del cociente de muestras positivas puede no estar correlacionada con el título de anticuerpos.
- c. Las muestras con cociente de DO en el margen de resultado dudoso (0,91-1,09) deberán volver a analizarse por duplicado. Documente cualesquiera dos de los tres resultados que concuerden. Repita la evaluación de las muestras dudosas utilizando un método serológico alternativo y/o repita la evaluación extrayendo otra muestra entre una y tres semanas más tarde.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. No se debe emitir un diagnóstico que se base exclusivamente en los resultados del sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS. Interprete los resultados de la prueba para antipaperas de forma conjunta con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.
2. Si se somete a pruebas una muestra durante un proceso de infección primaria, puede suceder que no se detecten anticuerpos de tipo IgG. Si se sospecha de la existencia de una infección por el virus de las paperas, será necesario tomar una segunda muestra transcurridos 14 días como mínimo.
3. Interprete con cautela los resultados no reactivos en pacientes inmunocomprometidos.

RESULTADOS ESPERADOS

El estudio clínico de este producto incluyó 200 muestras aleatorias que se enviaron a un laboratorio de referencia para serología de paperas. En lo que respecta a esta población, 24 de las 200 muestras (12,0%) resultaron negativas, 176 de 200 (88,0%) fueron positivas, y ninguna de las 200 (0%) ofreció resultados dudosos.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. Estudio comparativo

Se ha realizado un estudio comparativo para demostrar la equivalencia del sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS con otros dos sistemas de pruebas ELISA que se distribuyen comercialmente. El funcionamiento del sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS se evaluó en una investigación desarrollada en dos laboratorios clínicos. Ambos laboratorios estaban ubicados en el noreste de los Estados Unidos. En el estudio comparativo, el laboratorio uno utilizó un sistema de pruebas ELISA de distribución comercial (prueba comercial A), y el laboratorio dos utilizó otro sistema de pruebas ELISA de distribución comercial (prueba comercial B). En total, se analizaron 233 muestras: 113 en el laboratorio uno, y 120 en el laboratorio dos. Todas las muestras se congelaron una vez y se conservaron congeladas hasta el momento del análisis. Se desconocía la edad y el sexo de los pacientes. Las muestras sometidas a prueba en el laboratorio uno incluían 100 muestras que se enviaron a un laboratorio de referencia para serología de paperas rutinaria, así como 13 muestras que se habían caracterizado anteriormente como negativas para IgG antipaperas. Las muestras sometidas a prueba en el laboratorio dos incluían 100 muestras que se enviaron a un laboratorio de referencia para serología de paperas rutinaria, así como 20 muestras que se habían caracterizado anteriormente como negativas para IgG antipaperas. Los resultados del estudio comparativo se resumen en las Tabla 1 - 3.

Tabla 1: Cálculo de sensibilidad relativa, especificidad y concordancia; laboratorio clínico uno

		Sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
Prueba A comercial	Positivo	88	3	0	91
	Negativo	3	17	0	20
	Dudoso	0	2*	0	2
	Total	91	22	0	113

* Dos muestras (N5, 51) ofrecieron resultados dudosos en el ensayo comercial. Cuando se repitieron las pruebas de dichas muestras, los resultados volvieron a ser dudosos. Estas muestras dudosas se excluyeron de todos los cálculos.

Sensibilidad relativa = $88/91 = 96,6\%$ Intervalo de confianza de 95%** = 93,0 - 100%

Especificidad relativa = $17/20 = 85,0\%$ Intervalo de confianza de 95%** = 69,3 - 100%

Concordancia relativa = $105/111 = 94,6\%$ Intervalo de confianza de 95%** = 90,4 - 98,8%

** Los intervalos de confianza de 95% se calcularon según el método normal.

Tabla 2: Cálculo de sensibilidad relativa, especificidad y concordancia; laboratorio clínico dos

		Sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
Prueba B comercial	Positivo	85	3	0	88
	Negativo	2	30	0	32
	Dudoso	0	0	0	0
	Total	87	33	0	120

Sensibilidad relativa = 85/88 = 96,6%

Especificidad relativa = 30/32 = 93,8%

Concordancia relativa = 115/120 = 95,8%

* Los intervalos de confianza de 95% se calcularon según el método normal.

*Intervalo de confianza de 95% = de 92,8 a 100%

*Intervalo de confianza de 95% = de 85,4 a 100%

*Intervalo de confianza de 95% = de 92,2 a 99,4%

Tabla 3: Cálculo de sensibilidad relativa, especificidad y concordancia; ambos laboratorios clínicos combinados

		Sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
Ambas pruebas comerciales combinadas	Positivo	173	6	0	179
	Negativo	5	47	0	52
	Dudoso	0	2*	0	2
	Total	178	55	0	233

* Dos muestras (N5, 51) ofrecieron resultados dudosos en el ensayo comercial A. Cuando se repitieron las pruebas de dichas muestras, los resultados volvieron a ser dudosos. Estas muestras dudosas se excluyeron de todos los cálculos.

Sensibilidad relativa = 173/179 = 96,6%

Especificidad relativa = 47/52 = 90,4%

Concordancia relativa = 220/231 = 95,2%

** Los intervalos de confianza de 95% se calcularon según el método normal.

**Intervalo de confianza de 95% = de 94,0 a 99,3%

**Intervalo de confianza de 95% = de 82,4 a 98,4%

**Intervalo de confianza de 95% = de 92,5 a 98,0%

2. Reproducibilidad

La reproducibilidad se evaluó según se describe en el documento número EP5-T2: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices - Second Edition (Evaluación del Comportamiento de la Precisión de Instrumentos de Química Clínica - Segunda Edición), publicado por el Comité Nacional para los Estándares del Laboratorio de Química Clínica (NCCLS, por sus siglas en inglés), Villanova, PA, EE.UU. Se han realizado estudios de reproducibilidad en ambos laboratorios clínicos con las mismas muestras. Se analizaron seis muestras, dos de las cuales eran relativamente fuertes para positivo, dos cercanas a la densidad óptica del límite de referencia y otras dos negativas. Además, los controles negativo y positivo del kit se incluyeron como dos componentes adicionales del panel, en un total de ocho muestras. Durante cada día de las pruebas, cada una de estas ocho muestras se sometió a ensayo por duplicado. Además, durante cada uno de los días de las pruebas, el ensayo se realizó dos veces; una vez por la mañana y otra por la tarde, lo que supone un total de cuatro duplicados diarios para cada muestra. Los laboratorios uno y dos llevaron a cabo este estudio de reproducibilidad durante un periodo de veinte días, con un total de 80 observaciones para cada uno de los ocho componentes del panel. Los resultados de este estudio se ilustran en la Tabla 4.

Tabla 4: Resumen de pruebas de precisión realizadas en los laboratorios uno y dos

Muestra	Laboratorio	Cociente medio	Resultado	DEA*	DET**	Días	Total	% CV global
MU-1	1	3,801	Positivo	0,142	0,180	20	80	4,73
	2	4,235		0,338	0,515	20	80	12,15
MU-5	1	5,235	Positivo	0,095	0,272	20	80	5,20
	2	6,384		0,437	0,861	20	80	13,49
MU-3	1	1,065	Cerca del límite	0,033	0,046	20	80	4,30
	2	0,773		0,092	0,165	20	80	21,38
MU-7	1	1,004	Cerca del límite	0,034	0,057	20	80	5,64
	2	0,741		0,079	0,174	20	80	23,42
MU-9	1	0,399	Negativo	0,017	0,032	20	80	7,91
	2	0,136		0,044	0,071	20	80	51,81
MU-10	1	0,648	Negativo	0,030	0,045	20	80	6,97
	2	0,377		0,048	0,122	20	80	32,33
Control positivo	1	7,170	Positivo	0,148	0,547	20	80	7,63
	2	2,436		0,143	0,388	20	80	15,93
Control negativo	1	0,397	Negativo	0,013	0,031	20	80	7,71
	2	0,197		0,048	0,087	20	80	44,09

*Estimación puntual de la desviación estándar de la precisión dentro de un mismo ensayo.

**Estimación puntual de la desviación estándar de la precisión total.

3. Reactividad cruzada

Se han realizado estudios para evaluar interferencias en el sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS utilizando sueros negativos para anticuerpos contra las paperas y que demostraron tener anticuerpos contra otros virus. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Análisis de reactividad cruzada

Esp. I.D.	Resultado paperas	Rubeola	CMV	VHS-1	VHS-2	ACV	ANEB	Sarampión	VZV
C5	0,69	2,36 (+)	0,99 ±	2,16 (+)	1,74 (+)	3,31 (+)	2,51 (+)	2,07 (+)	1,17 (+)
D6	0,36	0,86 -	2,55 (+)	2,52 (+)	1,69 (+)	4,90 (+)	4,29 (+)	1,12 (+)	2,08 (+)
H6	0,54	2,79 (+)	3,67 (+)	1,74 (+)	1,71 (+)	2,29 (+)	7,98 (+)	0,92 ±	0,88 ±
D8	0,56	3,89 (+)	4,93 (+)	2,65 (+)	1,06 ±	2,39 (+)	4,78 (+)	2,58 (+)	2,16 (+)
H8	0,28	2,38 (+)	7,51 (+)	1,69 (+)	0,93 ±	6,79 (+)	5,40 (+)	2,70 (+)	3,25 (+)
F10	0,17	0,10 -	5,19 (+)	2,64 (+)	1,63 (+)	1,42 (+)	2,75 (+)	2,39 (+)	2,38 (+)
A11	0,12	0,07 -	2,78 (+)	1,81 (+)	0,87 -	1,13 (+)	4,60 (+)	0,73 -	1,96 (+)
G11	0,3	4,22 (+)	0,19 -	0,97 ±	1,65 (+)	2,65 (+)	6,95 (+)	1,38 (+)	3,04 (+)
H11	0,5	0,89 -	3,85 (+)	2,64 (+)	2,28 (+)	2,93 (+)	2,74 (+)	1,08 ±	1,28 (+)

NOTA: para todos los sistemas de pruebas indicados arriba, $\geq 1,10$ es reactivo (+), $\leq 0,90$ es negativo (-), y 0,91-1,09 es dudoso (\pm).

* Todos los resultados de ELISA indicados fueron generados utilizando sistemas de pruebas ELISA IgG comercializados con autorización legal y fabricados por ZEUS Scientific, Inc.

Este estudio de los sueros incluidos en la lista anterior no detectó reactividad cruzada con los diferentes anticuerpos IgG ni con el sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS.

REFERENCIAS

1. Shadomy (eds). American Society for Microbiology, Washington, DC. Pp: 774-778, 1985.
2. Kleiman, MB: Mumps Virus Infections, in: Laboratory Diagnosis of Viral Infections, Lennette EH (ed). Marcel Dekker, Inc. New York, NY. Pp:369-383, 1985.
3. Hopps, HE and Parkman, PD: Mumps Virus, in: Diagnostic Procedure for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections, 5th Ed. Lennette EH and Schmidt NH (eds). American Public Health Association, Washington DC pp: 633-653, 1979
4. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture - Second Edition; Approved Standard (1984). Published by national Committee for Clinical Laboratory Standards.
5. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
6. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
7. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



ZEUS Scientific, Inc.

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA

Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Opción 2

International: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Website: www.zeusscientific.com

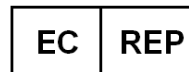
ZEUS ELISA y SAVE Diluent* son marcas registradas de ZEUS Scientific, Inc.

Para Asistencia al cliente en EE. UU., comuníquese con su distribuidor local.

Para Asistencia técnica en EE. UU., comuníquese con ZEUS Scientific: llame al número gratuito o escriba un e-mail support@zeusscientific.com.

Para consultas a Asistencia al cliente y Asistencia técnica fuera de EE. UU., comuníquese con su distribuidor local.

©2017 ZEUS Scientific, Inc. Todos los derechos reservados.



EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands