

APLICACIÓN

El sistema de pruebas ELISA Varicella-Zoster Virus (VZV) IgM de ZEUS está diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos de tipo IgM contra el VZV en suero humano para facilitar el diagnóstico de infección primaria o reactivación. Se desconoce el funcionamiento de este ensayo en la detección de anticuerpos anti-VZV en individuos que han recibido la vacuna VZV aprobada por la FDA. El usuario de este ensayo es responsable de establecer las características de funcionamiento en estos individuos. No se ha determinado el funcionamiento de este ensayo en la detección de anticuerpos anti-VZV en sangre del cordón umbilical y neonatos.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

El virus Varicella-Zoster (VZV) es un patógeno común en los humanos. La evolución clínica del VZV en humanos se suele clasificar como varicela y *Herpes zoster* (culebrilla). El principal avance significativo que permite entender la naturaleza de estos fármacos se debió originalmente a Weller y cols., quienes demostraron el método de propagación seriada del virus (1,2) y, más recientemente, su epidemiología y control (3). Se demostró que los aislamientos de virus obtenidos de pacientes con varicela y zóster eran idénticos según el efecto citopático (1), la antigenicidad (2) y la morfología (4,5). Más recientemente, se ha demostrado que estos virus tienen un peso molecular del ADN (6) y patrones de endonucleasa de restricción (7) idénticos.

Los síntomas clínicos de la varicela primaria incluyen un periodo prodrómico de dolores de cabeza, malestar y fiebre antes de la aparición del exantema. Con frecuencia, las erupciones características pueden ser el primer síntoma. La erupción es pleomorfa y evoluciona de macular a papular, antes de pasar a la fase vesicular, y suele desarrollarse en sucesivas oleadas de nuevas lesiones en un periodo de entre tres y cinco días.

La varicela es endémica en Estados Unidos y suele afectar a los niños en edad de enseñanza primaria (de cinco a ocho años). Los adultos, adolescentes y neonatos son también susceptibles de infección. La enfermedad aparece en ciclos de 2 a 5 años, generalmente en invierno o en primavera, y puede alcanzar niveles de epidemia. Se ha demostrado que las infecciones por varicela durante los primeros meses de embarazo rara vez provocan anomalías congénitas. Las infecciones por varicela en embarazadas en el momento del parto pueden causar infecciones mortales en el neonato, así como infecciones mortales en enfermos con diversas patologías (8-10). No es rara la propagación potencial de una enfermedad nosocomial.

El *Herpes zoster* (culebrilla) es una enfermedad que aparece principalmente en adultos; en la mayoría de los casos se produce en individuos mayores de 50 años. A diferencia de la naturaleza epidémica y temporal de la infección por varicela, el *Herpes zoster* muestra un patrón aleatorio. Se cree que el *Herpes zoster* es la reactivación de un virus de varicela ya existente que ha estado en estado latente desde la infección primaria por varicela. Las personas afectadas por infecciones por *Herpes zoster* se comportan así incluso en presencia de anticuerpos previamente existentes contra el virus de la varicela. Los síntomas de *Herpes zoster* son zonas eritematosas y maculopapulares que aparecen en una superficie cutánea inervada por el mismo nervio aferente. Aparecen vesículas, ya sean solas o en grupos, por lo general acompañadas de un dolor que en determinados casos puede ser extremo (11).

Según los datos epidemiológicos de la diseminación del VZV a través de los núcleos de góticulas o góticulas de aire y, posiblemente, por la descamación cutánea, se cree que la puerta de entrada del virus reside en las vías respiratorias (12). Una vez que el VZV se disemina a través de la sangre, se propaga rápidamente a la piel y puede detectarse en el endotelio. Después, afecta a las células de la epidermis con la acumulación de líquido entre la capa de células espinosas y la epidermis externa, formando una vesícula (13). La vesícula se convierte en el centro de una actividad inmunológica intensa con un infiltrado inicial de leucocitos polimorfonucleares que son la célula inflamatoria predominante que se observa en el *Herpes zoster* (14). Más adelante, las células mononucleadas migran hacia la vesícula.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgM contra VZV 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 de VZV. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

1. Los sueros de la prueba se diluyen con el diluyente de muestra que se proporciona. El diluyente de muestra contiene anti-IgG humana para fijar la IgG y el factor reumatoide e impedir la fijación no específica al antígeno inmovilizado. Durante la incubación de la muestra, los anticuerpos de tipo IgM específicos del antígeno presentes 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-IgM humana de cabra conjugada con peroxidasa a los pocillos y se incuba la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgM inmovilizado en la fase sólida del paso 1. Se lavan los micropocillos para eliminar el conjugado que no se haya fijado.
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.

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 el diluyente para muestras.**

PLATE	1.	Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con el antígeno desactivado de VZV (cepa Ellen). Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.
CONJ	2.	Conjugado: anti-IgM humana (específica de la cadena μ) de cabra conjugada con peroxidasa de rábano. Un vial de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.
CONTROL +	3.	Control positivo (suero humano): un vial de 0,35 ml con tapón rojo.
CAL	4.	Calibrador (suero humano): un vial de 0,5 ml con tapón azul.
CONTROL -	5.	Control negativo (suero humano): un vial de 0,35 ml con tapón verde.
DIL SPE	6.	Diluyente de la muestra: un frasco de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato. Solución de color púrpura. Listo para usar.
SOLN TMB	7.	TMB: un frasco de 15 ml de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
SOLN STOP	8.	Solución para detener la reacción: un frasco de 15 ml con tapón rojo con H ₂ SO ₄ 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
WASHBUF 10X	9.	Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Un frasco 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.

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.

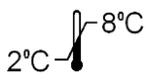
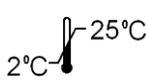
PRECAUCIONES

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. Deseché 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 (15).
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 para muestras, 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 lavabo 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

	Tirillas de micropocillos revestidos: 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.
	Conjugado: NO CONGELAR. Sistema de pruebas, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y diluyente para muestras sin abrir
	Solución para detener la reacción: 2 - 25°C Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C. Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C

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 (16, 17). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias, así como muestras que contengan elevados niveles de IgG. Se ha demostrado que los altos niveles de IgG reducen la reactividad al anticuerpo IgM contra el VZV.
4. 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 (18).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25 °C).
2. 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	

3. Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente para muestras) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente.
4. 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.
5. Añada 100 µl de diluyente para muestras 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.
6. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
7. Lave las tirillas de micropocillos 5 veces.
 - a. **Procedimiento de lavado manual:**
 1. Agite la placa para eliminar el líquido de todos los micropocillos.
 2. Llene cada micropocillo con solución tampón de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire atrapadas en los micropocillos.
 3. Repita los pasos 1. y 2. para un total de 5 lavados.
 4. 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.
 - b. **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.
8. 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.
9. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
10. Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
11. 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.
12. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) entre 10 y 15 minutos.
13. 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.
14. 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

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

CONTROL DE CALIDAD

1. El calibrador se debe analizar por triplicado cada vez que se realiza esta prueba. También se deben incluir en cada prueba 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:

	<u>Intervalo de DO</u>
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.
 - El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≥ 1,25.
 - Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
- 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.
- Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.
- 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

- 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.
- 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 x media de DO del calibrador = límite de referencia de la DO)
- 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 x 0,25 = 0,198
	DO de muestra desconocida	=	0,432
	Valor índice/cociente de DO de la muestra	=	0,432/0,198 = 2,18

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

	<u>Valor índice/cociente de DO</u>
Muestras negativas	≤ 0,90
Muestras dudosas	0,91 a 1,09
Muestras positivas	≥ 1,10

- Un cociente de DO ≤ 0,90 indica que no se ha detectado una cantidad significativa de anticuerpos de tipo IgM contra el VZV. Un resultado negativo indica que no hay infección activa por VZV. No obstante, las muestras que se obtienen demasiado temprano durante una infección primaria pueden no tener niveles detectables de anticuerpos IgM. Si se sospecha de la existencia de una infección primaria, deberá volver a tomar otra muestra en los siete días siguientes para someterla a prueba en el mismo ensayo junto con la muestra original, a fin de determinar la seroconversión.
- Un cociente de DO ≥ 1,10 indica que se han detectado anticuerpos de tipo IgM específicos contra el VZV. Un resultado positivo de la prueba indica una infección primaria o reactivada por VZV. Se considera que estas personas tienen riesgo de transmitir la infección por VZV.
- 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 procedimiento serológico alternativo y/o repita la evaluación extrayendo otra muestra entre una y tres semanas más tarde. Si la segunda muestra es positiva, considere que el paciente presenta una infección activa por VZV.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- No se debe emitir un diagnóstico que se base exclusivamente en los resultados del sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS. Interprete los resultados de la prueba para anti-VZV de forma conjunta con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.
- Este ensayo no está indicado para utilizarse en poblaciones de donantes de sangres.
- Un resultado reactivo en pacientes inmunocomprometidos puede no ser indicativo de una infección anterior por el virus de la varicela. Interprete con cautela los resultados de ensayos procedentes de productos sanguíneos recientes.
- No se han establecido las características de funcionamiento en los individuos que han recibido la vacuna VZV (cepa OKA).
- Se ha demostrado que el absorbente anti-IgG presente en el diluyente para muestras puede quitar ≥ 13,9 mg/ml de IgG del suero humano. Es posible que los pacientes con niveles de IgG superiores a 14 mg/mL necesiten tratamientos adicionales para neutralizar toda la IgG. Se ha demostrado que los niveles excesivamente altos de IgG reducen la reactividad al anticuerpo IgM contra el VZV.
- No se ha evaluado la reactividad cruzada potencial de este ensayo con muestras de individuos infectados con VHS 1 o VHS 2.

RESULTADOS ESPERADOS

Los estudios de población con pruebas de diagnóstico para análisis de anticuerpos indican que la mayoría de las personas han sufrido infecciones por el VZV antes de llegar a los 20 años de edad (18). El estudio clínico de este producto incluyó 302 muestras aleatorias que se enviaron para la evaluación de los anticuerpos anti-VZV. Se presentaron dos muestras de sexo desconocido. Los datos demográficos se resumen en la Tabla 1. Los datos obtenidos en este estudio clínico se proporcionan en la Tabla 2

Tabla 1: Datos demográficos

	Muestra (N)	Presentadas para	De la región	Sexo (masculino: femenino)	Edad mediana	Muestras pediátricas	Mujeres en edad fértil
Laboratorio uno	131	Anticuerpos anti-VZV	NE	17 : 114*	32,1	2	103
Laboratorio dos	47	Anticuerpos anti-VZV	NE	8 : 38*	36,9	2	20
Laboratorio tres	124	Anticuerpos anti-VZV	Oeste	39 : 84	34,6	13	62
Total	302			64 : 236	34,5	17	185

* Muestra de paciente presentada de sexo desconocido.

Tabla 2: Valores esperados/intervalos de referencia:

Edad	Grupo de muestras	Negativo para IgM anti-VZV	Positivo para IgM anti-VZV	Dudoso para IgM anti-VZV	No válido
1 - 9	Masculinos prospectivos	1	4		
	Femeninos prospectivos		3		
10 - 19	Masculinos prospectivos	1	10		
	Femeninos prospectivos		19	1	
20 - 29	Masculinos prospectivos		13		
	Femeninos prospectivos		85	2	
	Sexo desconocido		1		
30 - 39	Masculinos prospectivos		14		
	Femeninos prospectivos		64		
	Sexo desconocido		1		
40 - 49	Masculinos prospectivos		7		
	Femeninos prospectivos		26	1	
50 - 59	Masculinos prospectivos		7		
	Femeninos prospectivos	1	16		
60 - 69	Masculinos prospectivos		4		
	Femeninos prospectivos	2	10		
70+	Masculinos prospectivos		3		
	Femeninos prospectivos	1	4	1	
Totales	Masculinos prospectivos	2	62		
	Femeninos prospectivos	4	227	5	
	Sexo desconocido		2		
	Subtotal	6	291	5	0
	Total	302			

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. Estudio comparativo

Se ha realizado un estudio comparativo para demostrar la equivalencia del sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS con otro sistema de pruebas ELISA VZV IgM actualmente disponible en el mercado. Se evaluó el funcionamiento en una investigación clínica en tres laboratorios. Se analizaron 338 muestras: 131 en el laboratorio uno, 53 en el laboratorio dos y 154 en el laboratorio tres. Las muestras del laboratorio uno se presentaron para pruebas de anticuerpos anti-VZV. Las muestras del laboratorio dos incluyeron 47 muestras presentadas para pruebas de anticuerpos anti-VZV de rutina y 6 muestras que se caracterizaron previamente como positivas para anticuerpos IgM anti-VZV. Las muestras del laboratorio tres incluyeron 124 muestras de rutina presentadas para pruebas de anticuerpos anti-VZV y 30 muestras previamente caracterizadas como positivas. Los resultados de este estudio comparativo se resumen en las siguientes tablas: una con las muestras prospectivas y otra con las muestras prospectivas y retrospectivas.

Tabla 3: Muestras prospectivas: laboratorios combinados

		Resultados de ELISA comercial			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
Resultados del sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS	Positivo	6	4	2	12
	Negativo		281		281
	Dudoso		7	2	9
	Total	6	292	4	302

% de concordancia positiva = 6/6 = 100%

% de concordancia negativa = 281/294 = 95,6%

Intervalo de confianza de 95%** = de 54,1% a 100%

Intervalo de confianza de 95%** = de 96,2% a 97,6%

Tabla 4: Muestras prospectivas y retrospectivas: laboratorios combinados

		Resultados de ELISA comercial			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
Resultados del sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS	Positivo	38	4	4	46
	Negativo		282		282
	Dudoso	1	7	2	10
	Total	39	293	6	338

% de concordancia positiva = 38/39 = 97,4%

% de concordancia negativa = 282/297 = 94,9%

Intervalo de confianza de 95%** = de 86,5% a 99,9%

Intervalo de confianza de 95%** = de 91,8% a 97,1%

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

2. Reproducibilidad

La reproducibilidad se evaluó según se describe en el documento número EP5: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices – Second Edition (Evaluación de la precisión funcional de los dispositivos químicos clínicos – Segunda edición), según ha publicado el Instituto nacional para homologación de normas de laboratorio (CLSI). Se han realizado estudios de reproducibilidad en los tres laboratorios con las mismas muestras. Se analizaron seis muestras, dos de las cuales eran fuertes para positivo, dos cercanas a la densidad óptica del límite de referencia y otras dos negativas. Durante cada día de las pruebas, cada una de las muestras se sometió a ensayo en ocho pocillos replicados. El procedimiento se repitió por un total de tres días. La Tabla 5 muestra un resumen de las pruebas de precisión realizadas en los tres laboratorios.

Tabla 5: Resumen de la prueba de reproducibilidad

Muestra		Laboratorio 1			Laboratorio 2			Laboratorio 3			Precisión interensayos			Entre laboratorios
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Laboratorio 1	Laboratorio 2	Laboratorio 3	
1	Media	3,38	3,52	3,50	3,60	4,21	3,69	3,43	3,54	3,38	3,47	3,84	3,45	3,6
	DE	0,10	0,06	0,08	0,03	0,12	0,06	0,08	0,10	0,07	0,10	0,29	0,10	0,3
	% CV	2,8	1,8	2,2	1,0	2,9	1,5	2,3	2,7	2,1	0,03	0,07	0,03	7,1
2	Media	2,89	2,90	2,86	2,96	3,18	2,92	2,99	2,97	2,95	2,90	3,02	2,97	3,0
	DE	0,03	0,02	0,09	0,05	0,04	0,06	0,03	0,08	0,07	0,10	0,13	0,06	0,1
	% CV	1,0	0,8	3,0	1,6	1,4	2,1	1,1	2,7	2,3	0,02	0,04	0,02	3,4
3	Media	0,26	0,23	0,24	0,34	0,40	0,33	0,19	0,20	0,18	0,20	0,36	0,19	0,3
	DE	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,03	0,001	0,1
	% CV	5,0	2,3	3,4	2,1	2,9	3,8	3,8	7,5	8,0	0,07	0,10	0,07	28,1
4	Media	0,13	0,11	0,10	0,15	0,14	0,13	0,12	0,13	0,10	0,10	0,14	0,11	0,1
	DE	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,05	0,03	0,0
	% CV	3,6	3,6	2,6	5,0	4,0	7,1	7,5	7,3	8,5	0,11	0,07	0,13	14,0
5	Media	0,91	0,89	0,94	0,82	0,89	0,91	0,95	0,91	0,93	0,90	0,87	0,93	0,9
	DE	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,03	0,02	0,00	0,05	0,03	0,0
	% CV	1,5	2,5	2,4	2,8	1,5	1,8	2,6	2,8	1,7	0,03	0,05	0,03	4,6
6	Media	0,90	0,89	0,88	0,73	0,87	0,91	1,00	0,93	0,91	0,90	0,84	0,95	0,9
	DE	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,03	0,00	0,08	0,05	0,1
	% CV	3,0	2,	0,9	3,3	2,4	1,4	3,3	2,5	3,4	0,02	0,10	0,05	8,0

3. Reactividad cruzada

Se realizaron estudios para evaluar la reactividad cruzada en el sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS usando suero que contenía anticuerpos IgM contra VEB, CMV, paperas, factor reumatoide, Lyme, toxoplasma, rubeola y sarampión. Todos los sistemas de pruebas utilizados en este estudio fueron fabricados por ZEUS Scientific, Inc. para su distribución comercial. Este estudio no produjo reactividad cruzada detectable con estos anticuerpos.

Tabla 6: Reactividad cruzada

Estado de la enfermedad	Cantidad analizada	Cantidad de positivos o dudosos
IgM anti VEB	10	0/10
IgM anti CMV	10	0/10
Paperas	10	0/10
IgM anti FR	10	0/10
IgM anti Lyme	10	0/10
IgM anti Toxoplasma	10	0/10
IgM anti rubeola	10	0/10
IgM anti sarampión	10	0/10

Precaución: no se ha determinado la reactividad cruzada de este ensayo con muestras que contienen anticuerpos contra los virus VHS 1 y VHS 2.

4. Sustancias interferentes

Se evaluó el efecto de las siguientes sustancias potencialmente interferentes en los resultados positivos obtenidos con el sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS: bilirrubina, albúmina, IgG, colesterol, triglicéridos, hemoglobina e intralípidos. Se modificaron tres muestras, evaluadas para anticuerpos IgM anti-VZV, con el doble del nivel normal de interferentes potenciales y se volvieron a analizar usando el sistema de pruebas ELISA VZV IgM de ZEUS. Se observó cierta elevación de la señal en presencia de exceso de hemoglobina. Se observó una reducción de la señal en presencia de IgG excesivamente alta. En todos los casos, los resultados cualitativos de las tres muestras se mantuvieron inalterados.

Tabla 7: Sustancias interferentes

(Nota: todos los resultados se informan como valores índice)

	Nivel cargado	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3	
		Positivo	% señal positiva	Dudoso	% señal positiva	Negativo	% señal de control
Control – PBS	N/A	3,67	N/A	0,88	N/A	0,07	N/A
Control – Etanol	N/A	3,59	N/A	0,82	N/A	0,07	N/A
Bilirrubina	Bajo	3,78	103,16%	0,93	105,33%	0,08	123,53%
Bilirrubina	Alta	3,59	97,93%	0,90	101,7%	0,06	92,65%
Albúmina	Bajo	3,63	99,05%	0,91	103,63%	0,06	88,24%
Albúmina	Alto	3,82	104,01%	0,89	100,45%	0,07	108,82%
IgG	Bajo	2,71	69,6%	0,79	83,0%	0,10	245,0%
IgG	Alto	1,98	48,6%	0,51	56,70%	0,16	400,0%
Colesterol	Bajo	3,50	97,63%	0,88	107,6%	0,07	100,0%
Colesterol	Alto	3,60	100,33%	0,88	107,6%	0,07	102,82%
Triglicéridos	Bajo	3,80	105,94%	0,87	106,99%	0,07	100,0%
Triglicéridos	Alto	3,79	105,61%	0,88	107,6%	0,07	92,96%
Hemoglobina	Bajo	3,77	102,81%	0,94	106,58%	0,14	201,47%
Hemoglobina	Alto	4,06	110,66%	0,97	109,64%	0,11	167,65%
Intralípidos	Bajo	3,77	102,73%	0,87	98,53%	0,08	120,59%
Intralípidos	Alto	3,62	98,66%	0,87	98,75%	0,07	98,53%
Control	N/A	3,66	N/A	0,89	N/A	0,06	N/A

REFERENCIAS

1. Weller TH, Witton HM, Bell EJ. Exp. Med. 108:843, 1958
2. Weller TH, Coons AH: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86:789, 1954
3. Weller TH: Viral Infections of Human: Epidemiology and Control. 2nd ed. NY: Pelnum 569-95, 1982
4. Kimura A, et al: Arch virusforsch 36: 1, 1972
5. Esiri M, Tomlinson AH: J. Neurol. Sci. 15:25, 1972
6. Oakes JE, Iltis JP Hyman RW, et al: Virology, 82:353, 1977
7. Richards JC, Human RW, Rapp F: J. Virol. 32:812, 1979
8. Fleisher G, Henry W, McSorley M, Arbeter A, Plotkin S: Am. J. Dis. Child. 135:869-9, 1981.
9. Preblud SR: Pediatrics 68:14-7, 1981.
10. Ojeda VJ, et al: ASCP 529-532 (Vol 81, No.4), April 1984.
11. The Harvard Medical School Health Center, Vol IX. No.8 "Shingles". June, 1984.
12. Leclair JM, Zaia JA, Levin MJ: N. Engl. J. Med. 302:450, 1980.
13. Tyzzer EE: J. Med. Res. 14:361, 1960.
14. Stevens DA, Merigan TC: J. Infect. Dis. 509, 1975.
15. U.S. Department of Labor (OSHA), Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. 21CFR 1910-1030.
16. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18, Current edition. Approved Guideline.
17. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture: Current edition. Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
18. 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