

USO PREVISTO

El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte**®VHS-1 & 2 IgG Plus de ZEUS tiene como objetivo la detección cualitativa de la presencia o ausencia de anticuerpos de clase IgG del VHS-1 y VHS-2 en el suero humano. La prueba está indicada para adultos activos sexualmente y las mujeres embarazadas, como una ayuda para el diagnóstico presunto del Herpes Simplex 1 y Herpes Simplex 2. El valor predictivo de los resultados positivos o negativos depende de la prevalencia en la población y la probabilidad de VHS-1 y VHS-2 antes de la prueba. La prueba no tiene como fin ser utilizada para la selección de donantes o para la autoprueba. El rendimiento de este ensayo aún no se ha establecido para su uso en la población pediátrica, pacientes inmunocomprometidos, para su uso por instalaciones de atención ambulatoria o para su uso con equipo automatizado. Esta prueba está concebida exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

Las infecciones por el **virus del herpes simple** (VHS) están causadas por dos tipos de antígenos diferentes, VHS-1 y VHS-2 (1). Ambos tipos de VHS son patógenos humanos comunes. El VHS-1 suele asociarse a las infecciones en la zona orofaríngea y en los ojos, mientras que el VHS-2 causa la mayoría de las infecciones genitales y en neonatos (1,2). Sin embargo, el VHS-2 puede aislarse en el área orofaríngea ocasionalmente (3), y entre el 15 y el 20% de las infecciones genitales primarias pueden estar causadas por VHS-1 (1, 4).

Las infecciones por VHS se transmiten por secreciones que contienen el virus, mediante contacto físico íntimo. Las infecciones por VHS, tanto primarias como recurrentes, se presentan con frecuencia de forma subclínica y asintomática. La expulsión del virus es el factor que más contribuye a su propagación (2).

Las infecciones primarias por VHS-1 en la mucosa oral suelen producirse en niños menores de 5 años (2). La mayoría de las infecciones son asintomáticas. Las infecciones sintomáticas se caracterizan por gingivostomatitis asociada con fiebre, malestar e inflamación y sensibilidad a la presión en los nódulos linfáticos cervicales (2). Se forman numerosas vesículas en la mucosa oral, que posteriormente se ulceran y se curan en un par de semanas. La forma recurrente más común del VHS-1 es el herpes labial, con vesículas en los labios, las fosas nasales y la piel situada alrededor de la boca (1,2). Los síntomas de las infecciones genitales por VHS son la aparición de múltiples heridas ulceradas, acompañadas de dolor, fiebre, disuria y linfadenopatía (6).

La complicación más grave de la infección genital por VHS es la enfermedad en neonatos (2). En madres con una infección primaria activa, el riesgo de transmisión al niño llega hasta el 40% (5). Entre el 69 y el 80% de los niños que desarrollan herpes neonatal nacen de mujeres que no muestran síntomas de infección genital por VHS en el momento del parto (5). El herpes genital es particularmente problemático en el caso de adultos sexualmente activos, ya que la enfermedad se suele transmitir en ausencia de síntomas (13). La prueba de anticuerpos VHS está indicada para adultos sexualmente activos para identificar a aquellos bajo riesgo de adquirir VHS o de transmitir VHS a otros y para madres embarazadas bajo riesgo de adquirir infecciones VHS y de transmitir herpes neonatal (7, 13).

Aunque el cultivo combinado con la prueba de anticuerpos fluorescente directa (DFA) resulta definitiva a la hora de realizar un diagnóstico, la sincronización y los cultivos se deben obtener durante los periodos de enfermedad activa para producir una recuperación óptima (8, 9). Los procedimientos serológicos pueden resultar útiles para el diagnóstico de infecciones primarias por VHS, así como para determinar evidencias de infecciones anteriores por VHS (10). Muchos métodos serológicos para determinar el estado serológico del VHS son incapaces de diferenciar entre las infecciones VHS-1 y VHS-2 (10). Debido a que el tipo de VHS implicado en la enfermedad posee ramificaciones para su pronóstico (11, 12), es importante especificar el subtipo. Los ensayos serológicos específicos para el tipo de VHS se desarrollaron utilizando la importante diferencia entre la proteína gG-1 del VHS-1 y la proteína gG-2 del VHS-2 (10). Las primeras aplicaciones de las pruebas serológicas específicas para el tipo de VHS para VHS-1 y VHS-2 demostraron que beneficiaban las pruebas de las infecciones primarias, recurrentes y asintomáticas como un medio de diagnóstico definitivo y de asesoramiento de paciente apropiado (13). Los ensayos serológicos específicos del tipo de VHS resultan útiles a la hora de establecer o confirmar el diagnóstico de infecciones VHS-1 o 2 en personas asintomáticas, aquellos con lesiones sintomáticas pero con cultivo negativo, y aquellos con presentaciones atípicas (14). Las pruebas específicas del tipo de VHS se recomiendan para adultos activos sexualmente y mujeres embarazadas ya que la presencia de anticuerpos VHS es un indicador fiable de que un individuo puede estar infectado con VHS y que es capaz de transmitir el virus a los demás (14).

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** VHS-1 & 2 IgG Plus de ZEUS es un ensayo diseñado para detectar y diferenciar los anticuerpos IgG específicos de la gG-1 del VHS-1 y de la gG-2 del VHS-2 en el suero humano. El procedimiento de la prueba comprende dos pasos de incubación:

1. Los sueros de prueba (diluídos correctamente) se incuban en una mezcla multiplexada de la suspensión de microesferas. La suspensión de microesferas contiene una mezcla de conjuntos distinguibles de microesferas de poliestireno. Los antígenos específicos de las proteínas gG-1 y gG-2 del VHS están conjugados con el conjunto primario de microesferas. Si está presente en los sueros del paciente, determinados anticuerpos se unirán con el antígeno inmovilizado en uno o más conjuntos de microesferas. Las microesferas se enjuagan para extraer las proteínas séricas no reactivas.
2. El IgG antihumano de cabra conjugado con ficoeritrina se añade al recipiente y la placa se incuba. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgG inmovilizado en la fase sólida del paso 1. A continuación, la suspensión de microesferas se analiza utilizando el instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. El conjunto o conjunto de microesferas se clasifican (identifican) y la cantidad de molécula informante (conjugado PE) se determina para cada conjunto de microesferas. Mediante el empleo de la **Intra-Well Calibration Technology**® (tecnología de calibración intrapocillo), se utilizan conjuntos de micropartículas de calibración interna para establecer el límite de referencia del ensayo. Si está presente en los sueros del paciente, los anticuerpos del VHS se unirán con el correspondiente conjunto de microesferas de antígenos inmovilizado.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBA

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): Suspensión de microesferas, controles, conjugado y SAVe Diluent**®.

- | | |
|------|------|
| SOLN | BEAD |
|------|------|
1. Suspensión de microesferas: La suspensión contiene microesferas de poliestireno de 5,6 micras distinguibles y separadas que se conjugan con el antígeno de proteína recombinante gG-1 del VHS-1, peso molecular 55 kDa y el antígeno de la proteína recombinante gG-2 del VHS-2, peso molecular 31 kDa. La suspensión de microesferas también contiene un conjunto de microesferas diseñadas para detectar anticuerpos no específicos en la muestra del paciente (si está presente) y cuatro conjuntos de microesferas separadas que se utilizan para la calibración del ensayo. Un frasco de color ámbar que contiene 5,5 ml. Listo para usar.
- | | |
|------|--|
| CONJ | |
|------|--|
2. Conjugado: Ficoeritrina conjugada con IgG antihumana de cabra (γ específico de cadena). Una botella de color ámbar que contiene 15 ml. Listo para usar.
- | | |
|---------|---|
| CONTROL | + |
|---------|---|
3. Control positivo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón rojo.
- | | |
|---------|---|
| CONTROL | - |
|---------|---|
4. Control negativo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón verde.
- | | |
|-----|-----|
| DIL | SPE |
|-----|-----|
5. Diluyente SAVe Diluent®: Una botella de 50 ml con tapón verde solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. **NOTA: El diluyente SAVe Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.**
- | | |
|---------|-----|
| WASHBUF | 10X |
|---------|-----|
6. Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Una botella de 50 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X.

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 AtheNA Multi-Lyte de ZEUS: Tampón de lavado y SAVE Diluent®
2. El sistema de pruebas también contiene:
 - a. Una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.
 - b. CD de calibración que incluye los valores de calibración del kit específicos de los lotes y necesarios para el análisis de la muestra y el control de calidad del ensayo, y prospectos del paquete.
 - c. Una placa de disolución de 96 pocillos.
 - d. Una placa del filtro de disolución de 96 pocillos.

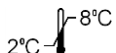
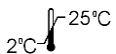
PRECAUCIONES

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 respire los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
3. La suspensión de microesferas **AtheNA Multi-Lyte** no contiene organismos viables. No obstante, el reactivo se debe considerar como un **peligro biológico potencial** y se debe manipular consecuentemente.
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, 16).
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 empezar el ensayo.** Devuelva los reactivos no utilizados a una temperatura refrigerada 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. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente SAVE®, la suspensión de microesferas, los controles y el conjugado contienen azida sódica en una concentración de 0,1% (w/v). Se ha informado que la azida sódica forma azidas de plomo o cobre en las cañerías del laboratorio, lo que puede ocasionar explosiones al golpear con un martillo. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
8. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
9. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
10. No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
11. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
12. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
13. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
14. Evite salpicar o generar aerosoles.
15. No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación. La suspensión de microesferas y el conjugado son reactivos sensibles a la luz. Ambos se han embalado en envases que protegen de la luz. Las exposiciones normales que se experimentan durante el curso de la ejecución del ensayo no afectarán al rendimiento del ensayo. No exponga estos reactivos a fuentes potentes de luz visible de manera innecesaria.
16. 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.
17. Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
18. 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.
19. 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. Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
2. Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud 10 - 200 µl.
3. Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
4. Pipetas serológicas.
5. Puntas de pipetas descartables.
6. Toallas de papel.
7. Cronómetro de laboratorio para controlar los pasos de incubación.
8. Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio)
9. Sistema **AtheNA Multi-Lyte** (Luminex® Instrument) con fluido envolvente (número de producto 40-50000).
10. Agua destilada o desionizada.
11. Vórtex.
12. Sonicador de baño pequeño.
13. Agitador de placas capaz de agitar a una velocidad de 800 RPM (opcional para el mezclado).
14. Aspirador de vacío y colector de vacío para lavar las microesferas.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Suspensión de microesferas: Extraiga solo la cantidad necesaria para analizar las muestras a los que se les va a realizar la prueba y devuelva la porción no utilizada a su almacenamiento.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, control positivo, control negativo y diluyente SAVE Diluent®
	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).

- 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.
- Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica. 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 de cada laboratorio utilizar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (21).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Retire los componentes individuales del kit del lugar de almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25°C).
- Determine el número total de Controles y muestras que se desean probar. Es necesario incluir el Control Negativo y el Control Positivo con cada tanda de pruebas. El Control Negativo se debe probar en el pocillo A1, y el Control Positivo en el pocillo B1. Cada Control y muestra necesita un micropocillo para su procesamiento.
 - Para optimizar los tiempos de lectura, la suspensión de microesferas debe estar bien mezclada antes de su empleo. El medio más efectivo de volver a suspender las microesferas es primero utilizar el vórtex con la suspensión de microesferas durante aproximadamente 30 segundos, seguido por la sonicación de la suspensión de microesferas durante 30 segundos en un pequeño sonicador de baño.
 - Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el contenido del ensayo se mezcle detenidamente. Entre los medios adecuados de mezcla se incluye mezclar la placa en un agitador de placa durante aproximadamente 30 segundos a 800 RPM aproximadamente, o ajustar una pipeta en aproximadamente ½ del volumen en la placa y aspirar y expulsar repetidamente (bomba arriba y bomba abajo) el contenido del pocillo durante un mínimo de 5 ciclos.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Control negativo	Etc.
B	Control positivo	
C	Paciente 1	
D	Paciente 2	
E	Paciente 3	
F	Paciente 4	
G	Paciente 5	
H	Paciente 6	

- 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.** Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de muestra se mezclen detenidamente según el punto 2b.
- Después de determinar el número total de pocillos a procesar, utilice una pipeta multicanal o repetidora para dispensar 50 µL de suspensión de microesferas dentro de cada uno de los pocillos de la platina de filtración.
- Transfiera 10 µL de cada muestra diluida (1:21) y el control de la placa de disolución a la placa de filtración. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de muestra se mezclen detenidamente según el punto 2b.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 30 ± 10 minutos.
- Después de la incubación, enjuague las microesferas mediante filtrado al vacío usando el tampón de lavado que se suministra diluido en la concentración 1x.
 - Coloque la placa de filtración sobre el colector de vacío y extraiga la solución, dejando las microesferas detrás.
 - Apague el vacío y añada 200 µL de Tampón de Lavado diluido 1x.
 - Aplique el vacío y extraiga la solución.
 - Repita los pasos 7b y 7c para un total de tres lavados.
- A continuación del lavado final, secar suavemente el fondo de la placa y permitir que la placa se seque al aire durante 3 a 5 minutos antes de continuar con el siguiente paso.
- Agregue 150 µl de conjugado a cada micropocillo a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el conjugado y la suspensión de microesferas se mezclen detenidamente según el punto 2b. Como una opción, mientras mezcle el conjugado y las microesferas, puede transferir la mezcla a pocillos vacíos de una placa de reacción de poliestireno.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 30 ± 10 minutos.
- Instale el instrumento **AtheNA Multi-Lyte** para analizar las reacciones. Para ello, seleccione la plantilla VHS-1 & 2 IgG Plus. Consulte el manual del operador para obtener detalles sobre la operación del instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. Los resultados se pueden leer en la placa del filtro o en una placa de reacción. **NOTA: Para obtener un análisis adecuado del espécimen, es importante que el instrumento se instale, calibre y mantenga de acuerdo con las instrucciones del fabricante.** Consulte el manual del instrumento para obtener información sobre la preparación del instrumento antes de la lectura de los resultados del ensayo.
- La placa deberá leerse en los 60 minutos posteriores a la adición de la incubación del conjugado. Es posible que decida agitar la placa durante unos 15 segundos antes de la lectura. Este paso opcional puede reducir la cantidad de tiempo necesario para leer la placa.

Paso	Procedimiento de prueba abreviado
1	Diluya las muestras al 1:21 en SAVe Diluent®. Mezcle bien.
2	Combine 50 µL de suspensión de microesferas con 10 µL de la muestra diluido en un pocillo vacío. Mezcle bien.
3	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos.
4	Enjuague las microesferas 3 veces con 200 µL de tampón de lavado (1x).
5	Seque suavemente el fondo de la placa y secar con aire durante 3 a 5 minutos.
6	Agregue 150 µL de conjugado en cada pocillo. Mezcle bien.
7	Transfíeralo a una placa de reacción (opcional).
8	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos
9	Agite la placa (opcional).
10	Lea los resultados dentro de un periodo de 60 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

- Cada vez que se realiza el ensayo, es necesario incluir el Control Negativo (en el pocillo A1) y el Control Positivo (en el pocillo B1).

2. La validez de la tirada se determina mediante la realización de los controles positivos y negativos. Estos criterios se analizan automáticamente mediante la *Intra-Well Calibration Technology*. Los controles positivo y negativo tienen como fin supervisar cualquier fallo importante del reactivo. El Control Positivo no asegurará la precisión del límite de referencia del ensayo.
 - a. El control negativo y el control positivo deben ser todos negativos en la microesfera no específica o de antígeno de control.
 - b. El control negativo debe ser negativo para todos y cada uno de los analitos incluidos en la suspensión de microesferas.
 - c. Cada control positivo debe ser positivo para un grupo predeterminado de analitos que se incluyen en la suspensión de microesferas. Estos rangos dependen de lote y están codificados dentro del CD de Calibración. Los rangos de Control Positivo se pueden ver haciendo clic sobre el botón “Gráficos de Control” del software **AtheNA Multi-Lyte** y después haciendo clic sobre “Límites superiores/inferiores de control”.
 - d. Si no se cumple ninguno de los criterios anteriores, toda la tirada se considerará como no válida y se tendrá que repetir. **En este caso, no comunique los resultados del paciente.**
3. La validez de la muestra se basa en las características de las microesferas y sus interacciones con los sueros de los pacientes. Se supervisan diferentes parámetros automáticamente mediante la *Intra-Well Calibration Technology*. Si se determina que cualquiera de los criterios no cumple las especificaciones, los resultados del paciente se considerarán como no válidos y se deberán repetir. En caso de que esto se produzca, el informe de datos indicará la muestra en particular que se invalidó y el código de solución de problemas. Si una muestra resulta no válida repetidamente, se debe probar utilizando una metodología alternativa ya que es incompatible con el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte® Plus**.
4. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas. Los controles externos deben ser representativos del suero humano normal debido a que el sistema de calibración **AtheNA Multi-Lyte** se basa parcialmente en las características de la muestra de suero. Si la formulación de la muestra es artificial (no es suero humano), se pueden producir resultados erróneos.
5. Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles positivos y negativos para asegurar la funcionalidad de los reactivos y la ejecución adecuada del procedimiento del ensayo. Los requisitos de control de calidad se deben realizar en total cumplimiento con las normativas locales, autonómicas o estatales, o con los requisitos de acreditación y los procedimientos de control de Calidad normativos del laboratorio del usuario. Se recomienda que el usuario consulte CLSI EP12-A y 42 CFR 493.1256 para obtener información de ayuda sobre las prácticas de CC adecuadas (27).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. Cálculos

- a. Calibración del ensayo: El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte VHS-1 & 2 IgG Plus** de ZEUS utiliza la *Intra-Well Calibration Technology*. La *Intra-Well Calibration Technology* incluye una curva estándar con múltiples puntos dentro de la suspensión de microesferas. Con la *Intra-Well Calibration Technology*, cada pocillo del ensayo se calibra internamente sin que necesite la intervención del usuario. La curva estándar está diseñada para que se ajuste automáticamente basándose en las características únicas del paciente o suero de control. Los valores del calibrador se asignan de acuerdo con los estándares internos de ZEUS, son específicos del lote y están codificados en el CD de calibración del lote.
- b. Límite de referencia del analito: Cada analito del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte VHS-1 & 2 IgG Plus** posee un límite de referencia asignado. ZEUS determina los límites de referencia para cada lote de sistema de pruebas, y están codificados en el CD de calibración del lote.
- c. Mediante la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*, todos los cálculos se realizan automáticamente cuando se utiliza el sistema **AtheNA Multi-Lyte**. La tecnología *Intra-Well Calibration Technology* ejecuta un análisis de regresión de las normativas internas, y a continuación ajusta los valores de unidad calculados basándose en una normativa adicional y en las características de la muestra de suero.

2. Interpretaciones

- a. **Determinación de corte:** El límite de referencia de este ensayo se configuró originalmente utilizando un panel de muestras negativas. Cada lote de kits se han probado mediante un panel de muestras caracterizadas, y los valores indicados están normalizados utilizando el CD de calibración específico de cada lote.
- b. **Interpretación de resultados de VHS-1y VHS-2:** Los valores unitarios de las muestras para los analitos se interpretan de la siguiente manera:

	AU/ml	Resultado	Interpretación
Analito de VHS-1 de AtheNA Multi-Lyte de ZEUS	<100 AU/ml	Negativo	No se detectaron anticuerpos de VHS-1 IgG.
	>120 AU/ml	Positivo	Presunto para la presencia de anticuerpos de IgG de VHS-1.
	100 – 120 AU/ml	Equívoco	Volver a probar la muestra por duplicado. Si en esta repetición de prueba una de las dos muestras sigue siendo dudosa, debe probarse mediante un procedimiento serológico de VHS específico del tipo alternativo como Western Blot, o extraerse una segunda muestra entre una y tres semanas después.
	INV	Inválido	Indica demasiada actividad en la microesfera de control no específica. Volver a probar muestra, si sigue resultando inválida probar otra vez con una muestra nueva.

	AU/ml	Resultado	Interpretación
Analito de VHS-2 de AtheNA Multi-Lyte de ZEUS	<100 AU/ml	Negativo	No se detectaron anticuerpos de VHS-2 IgG.
	>120 AU/ml	Positivo	Presunto para la presencia de anticuerpos de IgG de VHS-2.
	100 – 120 AU/ml	Equívoco	Volver a probar la muestra por duplicado. Si en esta repetición de prueba una de las dos muestras sigue siendo dudosa, debe probarse mediante un procedimiento serológico de VHS específico del tipo alternativo como Western Blot, o extraerse una segunda muestra entre una y tres semanas después.
	INV	Inválido	Indica demasiada actividad en la microesfera de control no específica. Volver a probar muestra, si sigue resultando inválida probar otra vez con una muestra nueva.

1. El valor numérico del resultado final por encima del corte no es indicativo de la cantidad de anticuerpos IgG anti-VHS-1 y 2 presentes.
2. Los resultados de la prueba se deben interpretar junto con la evaluación clínica, datos epidemiológicos y otra información de la que disponga el médico al evaluar al paciente.
3. Es posible que se produzcan falsos positivos. La prueba o pruebas repetidas con un dispositivo diferente pueden estar indicadas en algunas situaciones, por ejemplo, los pacientes con pocas probabilidades de padecer la infección VHS.

LIMITACIONES DEL ENSAYO

1. El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte VHS-1 & 2 IgG Plus** de ZEUS es una herramienta para el diagnóstico, pero no es en sí una prueba diagnóstica. Los resultados de la prueba se deben interpretar junto con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos diagnósticos.
2. Las muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas pueden interferir con el resultado de este ensayo. Además, los especímenes con concentraciones de IgC anormales pueden interferir con el resultado de este ensayo. Debe evitarse el uso de estos tipos de muestras.
3. No se han establecido las características de funcionamiento de este dispositivo para otras matrices distintas del suero.

4. Las muestras obtenidas demasiado pronto en la evolución de una infección pueden no tener niveles detectables de IgG de VHS. Los resultados negativos de VHS-2 se pueden deber a una seroconversión retrasada.
5. La serología VHS no puede distinguir entre infecciones genitales y no genitales.
6. Todavía no se ha evaluado la posible reactividad cruzada con *E.coli*, el vector recombinante para los antígenos gG1 y gG2.
7. El rendimiento de este ensayo se estableció utilizando anticuerpos monoclonales para descartar los siguientes agentes infecciosos que pueden producir síntomas similares al Herpes Simplex: *Gonorrhoeae*, *Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Gardnerella*, HPV y clamidia. Se recomienda el uso de cultivo u otros métodos apropiados para estos análisis.

RESULTADOS ESPERADOS

1. Investigadores internos y externos evaluaron el funcionamiento del dispositivo en:
 - a. Adultos sexualmente activos: 317 muestras enmascaradas recogidas prospectivamente procedentes de adultos sexualmente activos con edades comprendidas entre los 17 y los 69 se presentaron para las pruebas de anticuerpo VHS. Instalación clínica 1, un laboratorio hospitalario que se encuentra en el noreste probó 135 muestras recogidas en la región occidental de los Estados Unidos. Las muestras proceden de 78 hombres y 48 mujeres, 37 de las cuales estaban en edad de procrear. Se presentaron 9 muestras de sexo desconocido. La edad media de estos pacientes era de 35,4 años. Instalación clínica 2, un laboratorio hospitalario en el noreste probó 84 muestras. Las muestras proceden de ocho hombres y 76 mujeres, 69 de las cuales estaban en edad de procrear. La edad media de estos pacientes era de 48,7 años. Instalación clínica 3, la instalación clínica del fabricante, probó 98 muestras recogidas en el noreste. Las muestras proceden de 46 hombres y 52 mujeres, 46 de las cuales estaban en edad de procrear. La edad media de estos pacientes era de 36,7 años.
 - b. Mujeres embarazadas: Se obtuvieron 150 muestras enmascaradas y archivadas de un distribuidor de suero. Las 150 madres embarazadas tenían edades comprendidas entre los 18 y los 48 años. De las 150 mujeres embarazadas, 50 estaban en su primer trimestre de embarazo, 50 estaban en su segundo trimestre y 50 estaban en su tercer trimestre de embarazo.
2. La prevalencia observada y los valores predictivos hipotéticos para las dos poblaciones se muestran a continuación. Los cálculos están basados en el sistema **AtheNA Multi-Lyte** que posee una sensibilidad y una especificidad de:
 - a. VHS-1: sensibilidad del 98,4% y especificidad del 92,5% en adultos activos sexualmente y
 - b. VHS-2: sensibilidad del 97,6% y especificidad del 96,2% en adultos activos sexualmente
 - c. VHS-1: sensibilidad del 100,0% y especificidad del 96,2% en mujeres embarazadas y
 - d. VHS-2: sensibilidad del 100,0% y especificidad del 97,8% en mujeres embarazadas.

La prevalencia observada de VHS-1 en la población adulta activa sexualmente es del 59,6% y para VHS-2 es del 28,1%. En la población de madres embarazadas, la prevalencia observada de VHS-1 es de 66,7% y para VHS-2 es de 40,7%.

Tabla 1: Valores esperados/rangos de referencia/prevalencia observada (adultos sexualmente activos) del sistema de prueba AtheNA Multi-Lyte VHS-1 & 2 IgG Plus

Edad	Sexo	VHS-1 Positivo	VHS-1 Negativo	Total	Prevalencia Observada de VHS-1 (%)	VHS-2 Positivo	VHS-2 Negativo	Total	Prevalencia Observada de VHS-2 (%)
17 - 19	Masculino	4	1		2,1	0	5		0,0
	Femenino	7	8		3,7	2	12		2,2
20 - 29	Masculino	20	22		10,6	6	36		6,7
	Femenino	49	39		25,9	22	66		24,7
	Desconocido	2	4		1,1	2	4		2,2
30 - 39	Masculino	16	18		8,5	8	26		9,0
	Femenino	31	7		16,4	12	27		13,5
	Desconocido	1	2		0,5	1	2		1,1
40 - 49	Masculino	14	6		7,4	6	14		6,7
	Femenino	10	8		5,3	7	11		7,9
50 - 59	Masculino	19	5		10,1	12	12		13,5
	Femenino	6	3		3,2	3	6		3,4
	Desconocido	1	0		0,5	1	0		1,1
60 - 69	Masculino	5	2		2,6	4	3		4,5
	Femenino	4	2		2,1	3	3		3,4
Subtotal	Masculino	78	54		41,3	36	96		40,4
	Femenino	107	67		56,6	49	126		55,1
	Desconocido	4	6		2,1	4	6		4,5
	Total	189	127	317	59,6	89	228	317	28,1

Tabla 2: Valores esperados/rangos de referencia/prevalencia observada (mujeres embarazadas) del sistema de prueba AtheNA Multi-Lyte VHS1 & 2 IgG Plus de ZEUS

Edad	VHS-1 Positivo	VHS-1 Negativo	Total	Prevalencia Observada de VHS-1 (%)	VHS-2 Positivo	VHS-2 Negativo	Total	Prevalencia Observada de VHS-2 (%)
17 - 19	12	7		12,0	8	11		13,1
20 - 29	52	27		52,0	37	42		60,7
30 - 39	25	8		25,0	12	21		19,7
40 - 49	11	8		11,0	4	15		6,6
Total	100	50	150	66,7	61	89	150	40,7

Tabla 3: Prevalencia vs. valor predictivo hipotético

Adultos sexualmente activos: Valores predictivos hipotéticos					Mujeres embarazadas: Valores predictivos hipotéticos				
Prevalencia	VHS-1		VHS-2		Prevalencia	VHS-1		VHS-2	
	VPP	VPN	VPP	VPN		VPP	VPN	VPP	VPN
50%	92,3	98,3	96,2	97,6	50%	96,3	100	97,8	100
40%	89,7	98,9	94,4	98,4	40%	94,6	100	96,8	100
30%	84,9	99,3	91,6	98,9	30%	91,9	100	95,1	100
25%	81,4	99,4	89,5	99,2	25%	89,8	100	93,8	100
20%	76.	99,6	86,5	99,4	20%	86,8	100	91,9	100
15%	69,8	99,7	81,9	99,6	15%	82,2	100	88,9	100
10%	59,3	99,8	74,1	99,7	10%	74,5	100	83,5	100
5%	40,8	99,9	57,5	99,9	5%	58,1	100	70,5	100

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. **Estudio comparativo**

a. **Resumen de características de rendimiento**

		Analito de IgG de VHS-1 de AtheNA Multi-Lyte de ZEUS	Analito de IgG de VHS-2 de AtheNA Multi-Lyte de ZEUS
Adultos sexualmente activos (Población diana)	Sensibilidad (%)	98,4	97,6
	Especificidad (%)	92,5	96,2
Mujeres embarazadas (Población diana)	Sensibilidad (%)	100,0	100,0
	Especificidad (%)	96,2	97,8
Panel de VHS de los CDC	Acuerdo con positivos (%)	100,0	100,0
	Acuerdo con negativos (%)	100,0	98,1
Población de baja prevalencia	Especificidad (%)	96,7	98,4
Reactividad cruzada	Reactividad cruzada (%)	0,0	0,0
Reproducibilidad	% CV de positivos	<10,5	<15

b. **Rendimiento en adultos sexualmente activos**

ZEUS y dos investigadores exteriores evaluaron el dispositivo utilizando un total de 317 muestras prospectivas. Los técnicos de ZEUS probaron 135 muestras. Dos investigadores exteriores probaron 84 muestras y 98 muestras respectivamente. Las muestras se entregaron secuencialmente a los laboratorios, se archivaron y se enmascararon. Las muestras se recogieron procedentes de adultos activos sexualmente con edades comprendidas entre los 17 y los 70 años y se entregaron para las pruebas de anticuerpos de Herpes Simplex. Los resultados de este estudio comparativo se presentan individualmente por instalación clínica y se resumen en las tablas 4 y 5.

Tabla 4: Adultos sexualmente activos (VHS-1)

			Inmunotransferencia de otras marcas				Sensibilidad/Especificidad	IC del 95%	
			Positivo	Indeterminada	Negativo	Total del laboratorio			
IgG de VHS-1 de AtheNA Multi-Lyte de ZEUS	Laboratorio uno	Positivo	82	1	4	87	96,5 (82/85)	90,0 – 99,3	
		Equívoco	0	0	0	0			
		Negativo	3	0	45	48			91,8 (45/49)
		Total de instalación	85	1	49	135			
	Laboratorio dos	Positivo	49	0	2	51	100,0 (49/49)	94,1 – 100,0	
		Equívoco	0	1	0	1			
		Negativo	0	0	32	32			91,4 (32/35)
		Total de instalación	49	0	35	84			
	Laboratorio tres	Positivo	49	0	2	51	100,0 (49/49)	94,1 – 100,0	
		Equívoco	0	0	0	0			
		Negativo	0	0	47	47			95,9 (47/49)
		Total de instalación	49	0	49	98			
Instalaciones clínicas combinadas	Positivo	180	1	8	189	98,4 (180/183)	95,3 – 99,7		
	Equívoco	0	0	1	1				
	Negativo	3	0	124	127			92,5 (124/134)	
	Total de instalación	183	1	133	317				

Tabla 5: Adultos sexualmente activos (VHS-2)

			Inmunotransferencia de otras marcas			Total del laboratorio	Sensibilidad/Especificidad	IC del 95%
			Positivo	Indeterminada	Negativo			
IgG de VHS-2 de AtheNA Multi-Lyde ZEUS	Laboratorio uno	Positivo	43	0	2	45	97,7 (43/44)	88,0 – 99,9
		Equívoco	0	0	0	0		
		Negativo	1	1	88	90	97,8 (88/90)	92,2 – 99,7
		Total de instalación	44	1	90	135		
	Laboratorio dos	Positivo	16	0	3	19	100,0 (16/16)	82,9 – 100,0
		Equívoco	0	0	0	0		
		Negativo	0	0	65	65	95,6 (65/68)	87,6 – 99,1
		Total de instalación	16	0	68	84		
	Laboratorio tres	Positivo	21	0	4	25	100,0 (21/21)	86,7 – 100,0
		Equívoco	0	0	0	0		
		Negativo	0	0	73	73	94,8 (73/77)	87,2 – 98,6
		Total de instalación	21	0	77	98		
Instalaciones clínicas combinadas	Positivo	80	0	9	89	97,6 (80/82)	91,4 – 99,7	
	Equívoco	0	0	0	0			
	Negativo	1	1	226	228	96,2 (226/235)	92,9 – 98,2	
	Total de instalación	81	1	235	317			

c. Rendimiento en mujeres embarazadas

Los estudios comparativos se realizaron en ZEUS utilizando sueros archivados y enmascarados procedentes de un distribuidor de suero. Las 150 mujeres embarazadas tenían edades comprendidas entre los 18 y los 48 años. De las 150 mujeres embarazadas, 50 estaban en su primer trimestre de embarazo, 50 estaban en su segundo trimestre y 50 estaban en su tercer trimestre de embarazo. Los resultados se muestran en las Tablas 6 y 7.

Tabla 6: Mujeres embarazadas (VHS-1)

		Resultados de inmunotransferencia de otras marcas			Total del laboratorio
		Positivo	Indeterminada	Negativo	
AtheNA Multi-Lyde	Positivo	98	0	2	100
	Equívoco	0	0	0	0
	Negativo	0	0	50	50
	Total del laboratorio	98	0	52	150
Sensibilidad = 100,0% (98/98)		*95% IC = 97,0 – 100,0			
Especificidad = 96,2% (50/52)		*95% IC = 86,8 – 99,5			

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

Tabla 7: Mujeres embarazadas (VHS-2)

		Resultados de inmunotransferencia de otras marcas			Total del laboratorio
		Positivo	Indeterminada	Negativo	
AtheNA Multi-Lyde	Positivo	59	0	2	61
	Equívoco	0	0	0	0
	Negativo	0	0	89	89
	Total del laboratorio	59	0	91	150
Sensibilidad = 100,0% (59/59)		*95% IC = 95,1 – 100,0			
Especificidad = 97,8% (89/91)		*95% IC = 92,3 – 99,7			

d. Acuerdo con el panel CDC

El rendimiento del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyde VHS-1 & 2 IgG Plus** se evaluó utilizando un panel de sueros VHS bien caracterizado y enmascarado de CDC. El panel está compuesto de un 24% de muestras positivas dobles VHS-1 y VHS-2, un 50% de muestras positivas VHS-1 y 50% de muestras negativas VHS-1, y un 48% de muestras positivas VHS-2 y un 52% de muestras negativas VHS-2. Los resultados se presentan para proporcionar más información sobre el comportamiento del sistema de pruebas y no implica el respaldo del ensayo por parte del CDC. Las Tablas 8 y 9 recogen los resultados de esta prueba.

Tabla 8: Panel CDC (VHS-1)

		Positivo	Negativo	Total del laboratorio
		AtheNA Multi-Lyde	Positivo	50
Equívoco	0		0	0
Negativo	0		50	50
Total del laboratorio	50		50	100
% de concordancia positiva = 100,0% (50/50)		*95% IC = 94,2 – 100,0		
% de concordancia negativa = 100,0% (50/50)		*95% IC = 94,2 – 100,0		

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

Tabla 9: Panel CDC (VHS-2)

		Positivo	Negativo	Total del laboratorio
		AtheNA Multi-Lyde	Positivo	48
Equívoco	0		0	0
Negativo	0		51	51
Total del laboratorio	48		52	100
% de concordancia positiva = 100,0% (48/48)		*95% IC = 94,0 – 100,0		
% de concordancia negativa = 100,0% (51/52)		*95% IC = 89,7 – 100,0		

e. Rendimiento en una población de baja prevalencia

La especificidad relativa del sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyde VHS-1 & 2 IgG Plus** se evaluó internamente utilizando sueros procedentes de una población de prevalencia baja. La población de prevalencia baja estaba comprendida por sueros almacenados en bancos de sueros en la instalación clínica del fabricante. Las muestras de suero enmascarado archivadas de individuos de 18 y 19 años que anteriormente fueron sometidos a pruebas en busca de infecciones consideradas no sexuales y el rendimiento se comparó con el dispositivo legal de otra marca.

1. Reactividad de VHS-1: El dispositivo de inmunotransferencia de otra marca legal dio positivo en las 8 muestras y negativo para las 58 muestras. El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyde VHS-1 & 2 IgG** concordó con el 100% (8/8) de los positivos de inmunotransferencia y el 96,7% (56/58) de los negativos de inmunotransferencia.
2. Reactividad de VHS-2: El dispositivo de inmunotransferencia de otra marca legal dio positivo en 3 muestras y negativo para 63 muestras. El sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyde VHS-1 & 2 IgG** concordó con el 100% (3/3) de los positivos de inmunotransferencia y el 98,4% (62/63) de los negativos de inmunotransferencia. Los resultados de este estudio se ilustran en las Tablas 10 y 11.

Tabla 10: Población de baja prevalencia (VHS-1)

		Resultados de inmunotransferencia de otras marcas			Total del laboratorio
		Positivo	Indeterminada	Negativo	
AtheNA Multi-Lyte	Positivo	8	0	2	10
	Equívoco	0	0	0	0
	Negativo	0	0	56	56
	Total del laboratorio	8	0	58	66
Sensibilidad = 100,0% (8/8)		*95% IC = 63,1 – 100,0			
Especificidad = 96,7% (56/58)		*95% IC = 88,1 – 99,6			

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

Tabla 11: Población de baja prevalencia (VHS-2)

		Resultados de inmunotransferencia de otras marcas			Total del laboratorio
		Positivo	Indeterminada	Negativo	
AtheNA Multi-Lyte	Positivo	3	0	1	4
	Equívoco	0	0	0	0
	Negativo	0	0	62	62
	Total del laboratorio	3	0	63	66
Sensibilidad = 100,0% (3/3)		*95% IC = 29,2 – 100,0			
Especificidad = 98,4% (62/63)		*95% IC = 91,2 – 100,0			

1. Precisión y reproducibilidad

La reproducibilidad se evaluó internamente y en dos instalaciones clínicas externas. Para la reproducibilidad intraensayo, el % CV total de VHS-1 es de 9,7% y para VHS-2 es de 12,8%. Para la reproducibilidad interensayo, el % CV total de VHS-1 es de 10,5% y para VHS-2 es de 14,9%. El estudio se basó en un procedimiento de operación estándar (SOP, por sus siglas en inglés) interno y se condujo de la siguiente manera: Se identificaron y/o prepararon seis muestras (por ZEUS Scientific, Inc.) para su uso en el estudio basándose en su actividad en el ensayo **AtheNA Multi-Lyte** de ZEUS. Se seleccionaron dos muestras que eran claramente negativas, dos que eran claramente positivas y dos que estaban cerca del límite de referencia del ensayo. Para evaluar la precisión intraensayo, en cada día de la prueba, cada muestra se diluyó dos veces y seguidamente cada dilución se analizó por cuadruplicado, lo que resultó en ocho resultados por ensayo. Esto se repitió durante tres días y los datos resultantes se utilizaron para evaluar la precisión interensayo en cada una de las instalaciones. Para evaluar la precisión interensayo se utilizaron los resultados de las pruebas de cada día de cada instalación, totalizando nueve pasadas. Los estudios de reproducibilidad se resumen en las Tablas 12 y 13.

Tabla 12: Reproducibilidad (VHS-1)

	Índice medio	Intraensayo % CV	Interensayo % CV	Interlaboratorio	
				Índice medio	Media de lab % CV
Muestra 1	26,3	15,0	18,2	26,3	21,8
Muestra 2	8,4	39,2	44,0	8,4	58,2
Muestra 3	144,8	11,9	15,9	144,8	16,6
Muestra 4	195	11,0	12,3	195	15,9
Muestra 5	311,8	8,4	9,9	311,8	10,7
Muestra 6	392,2	8,5	9,1	392,2	12,8

Tabla 13: Reproducibilidad (VHS-2)

	Índice medio	Intraensayo % CV	Interensayo % CV	Interlaboratorio	
				Índice medio	Media de lab % CV
Muestra 1	16,4	36,4	36,8	16,4	44,0
Muestra 2	20,8	27,9	31,0	20,8	40,0
Muestra 3	155,7	115,5	21,0	155,7	23,6
Muestra 4	114,2	10,6	13,7	114,2	18,1
Muestra 5	44223	9,2	12,4	44223	13,9
Muestra 6	356,2	8,0	14,1	356,2	16,1

2. Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en la instalación clínica del fabricante de acuerdo con CLSI EP5: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices-Second Edition, Wayne, PA (18). El estudio se llevó a cabo de la siguiente manera: Se identificaron y/o prepararon seis muestras (por ZEUS Scientific) para su uso en el estudio basándose en su actividad en el ensayo **AtheNA Multi-Lyte** de ZEUS. Se seleccionaron dos muestras que eran claramente negativas, dos que eran claramente positivas y dos que estaban cerca del límite de referencia del ensayo. En cada día de la prueba, las muestras se diluyeron dos veces y se analizaron. Un técnico diferente repitió este procedimiento en una segunda serie durante un total de doce días. El estudio se resume en la tabla 14.

Tabla 14: Resultados de repetibilidad

	VHS-1			VHS-2		
	Índice medio	Intraensayo % CV	Interensayo % CV	Índice medio	Intraensayo % CV	Interensayo % CV
Muestra 1	24,6	15,0	16,8	17,4	28,3	35,8
Muestra 2	8,5	38,3	41,6	22,4	20,9	28,1
Muestra 3	115,8	6,3	10,0	124	9,7	15,0
Muestra 4	163,5	10,5	12,0	93,6	11,1	12,3
Muestra 5	299,7	9,1	11,6	362	10,5	12,3
Muestra 6	362,3	8,6	12,5	301,1	9,7	14,1

3. Reactividad cruzada

Se realizaron estudios para evaluar la reactividad cruzada con el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** VHS-1 & 2 IgG Plus utilizando sueros que eran VHS doble negativos de acuerdo con la prueba de inmunotransferencia, y que resultaron seropositivos en relación con las paperas, sarampión, VBE-ACV, ANEB, rubéola, VZV, ANA, CMV y sífilis. Para determinar la seropositividad de las muestras se utilizaron sistemas de prueba de inmunoensayo ELISA y de micropartículas, fabricados para su distribución comercial por ZEUS Scientific. Se analizaron diez muestras para cada posible agente de reacción cruzada. Este estudio no produjo una reactividad cruzada detectable con muestras que contenían estos anticuerpos. Consulte la tabla 16 para obtener los resultados de reactividad cruzada.

Tabla 15: Resultados de reactividad cruzada

Posibles sustancias con reactividad cruzada	Resultados positivos/Cantidad analizada
Sarampión	0/10
Paperas	0/10
VEB-ACV	0/10
ANEB	0/10
Rubeola	0/10
VZV	0/10
ANA	0/10
CMV	0/10
Sífilis	0/10

4. Sustancias interferentes

El efecto de sustancias interferentes potenciales en los resultados de la muestra generados utilizando el sistema de prueba **AtheNA Multi-Lyte** VHS-1 & 2 IgG Plus se evaluó con las siguientes sustancias interferentes posibles basándose en las directrices que se establecen en CLSI EP7-A2 (19): albumina, bilirrubina, colesterol, hemoglobina, triglicéridos e intralípidos. La cantidad de analito en casa sustancia interferente es la siguiente:

Bilirrubina: 1 mg/dl (bajo), 15 mg/dl (alto)

Albúmina: 3,5 g/dl (bajo), 5 g/dl (alto)
Colesterol: 150 mg/dl (bajo), 250 mg/dl (alto)
Triglicéridos: 150 mg/dl (bajo), 500 mg/dl (alto)
Hemoglobina: 20 g/dl (bajo), 20 g/dl (alto)
Intralípidos: 300 mg/dl (bajo), 750 mg/dl (alto)

Se seleccionaron tres muestras para cada VHS-1 y VHS-2 basándose en su rendimiento en el sistema de prueba ZEUS **AtheNA Multi-Lyte**: positivas (VHS-1, 818 AU/ml; VHS-2, 566 AU/ml), dudosas (VHS-1, 152 AU/ml; VHS-2, 92 AU/ml) y negativas (VHS-1, 62 AU/ml; VHS-2, 34 AU/ml). Las muestras se expusieron a la posible sustancia interfiriente, probadas en duplicado y se estableció el promedio. Todas las muestras mostraron menos de un 20% de cambio en la señal con la excepción de la muestra VHS-1 negativa, que mostró un incremento en la señal del 33% con la baja adición de la albúmina y un incremento de la señal del 39% con la alta adición de albúmina. La muestra VHS-2 negativa mostró un cambio en la señal del 37% con la baja adición de albúmina y 28% con la alta adición de albúmina. La muestra VHS-2 negativa también mostró cambios en la señal con la bilirrubina, 43% y 52%, albúmina, 37% y 28%, hemoglobina, 53% y 52% e intralípidos, 52% y 34%, adiciones bajas y altas de sustancias interferentes respectivamente. El cambio de la señal en estas muestras negativas no cambió el resultado cualitativo en estas muestras.

REFERENCIAS

1. Nahmias AJ, and Roizman BR: Infection with Herpes Simplex viruses 1 and 2. *New Eng. J. Med.* 289:667, 719, 781, 1983.
2. Lycke E, and Jeansson S: Herpesviridae: Herpes Simplex virus. In: EH Lennett, P Halonen, and FA Murphy, eds., *Laboratory Diagnosis of Infectious diseases: Principals and Practice*, vol. II: Viral, rickettsial and Chlamydial Diseases, Springer-Verlag, Berlin, pp 211, 1988.
3. Nahmias AJ, Dannenbarger J, Wickliffe C, and Muther J: Clinical aspects of infection with Herpes simplex viruses I and II. In: AJ Nahmias, WR Dowdle, and RF Schinzel, eds., *The Human Herpes Viruses, an Interdisciplinary Perspective*, Elsevier/North-Holland Publishing co., New York, pp 2, 1980.
4. Ashley, RL: Current Concepts in Laboratory Diagnosis of Herpes Simplex Infections, in: SL Sachs, SE Strauss, RJ Whitney, and PD Griffiths, eds., *Clinical Management of Herpes Virus*, pp 139,1995.
5. Whitley RJ and Hutto C: Neonatal Herpes Simplex virus infections. *Ped. Rev.* 7:119, 1985.
6. Denoyel GA, Gaspar A, and Novyrigat C: Enzyme immunoassay for measurement of antibodies to Herpes Simplex virus infection: Comparison and complement fixation, immunofluorescent antibody, and neutralization techniques. *J. Clin. Micro.* 11:114-119, 1980.
7. Brown Z, Sleke S, Zeh J, Kopelman J, Maslow A, Ashley R, Watts D, Berry S, Herd H, Correy L. The acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *N Engl J Med* 337:505-515 (1997)
8. Aurelian, L. Herpes Simplex Viruses. 473-497. In Specter, S & G Lancz, eds., *Clinical Virology Manual*. 2nd Ed. Elsevier, New York. (1992)
9. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. *MMWR* 2002:51 (No.RR-6)
10. Arvin, A, C. Prober. Herpes Simple Viruses. 876-883. In Murray, P, E. Barron, M. Pfaller, F. Tenover, and R. Yolken (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. 6th Ed. ASM, Washington, D.C. (1995).
11. Lafferty, W.E., R.W. Coombs, J. Benedetti, C. Critchlow, and L. Corey. 1987. Recurrences after oral and genital herpes simplex infection: influence of site of infection and viral type. *N. Engl. J. Med.* 316: 1444-1449.
12. Reeves, W. C., L. Corey, H.G. Adams, L.A. Vonteur, and K.K. Holmes. 1981. Risk of recurrence after first episodes of genital herpes: relation to VHS type and antibody response. *N. Engl. J. Med.* 305: 315-319.
13. Munday, P.E., J. Vuddamalay, M.J. Slomka, and D.W.G. Brown. 1998. Role of type specific herpes simplex serology in the diagnosis and management of genital herpes. *Sex. Transm. Infect.* 74: 175-178.
14. Wald A, J Zeh, S Selke, et al. (2000) Reactivation of Genital Herpes Simplex Type 2. Infections in asymptomatic seropositive persons. *N.Eng.J.Med* 342:844-849.
15. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. U.S. Government Printing Office, Washington D.C., 4th Ed., 1999.
16. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. *Fed. Register* 56:64175-64182, 1991.
17. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissues; Approved Guideline. *NCCLS/CLSI Document M29, Vol.17 (12), 1997.*
18. CLSI H18-A2: Procedures for the Handling and processing of Blood Specimens, 2nd Ed. (2006)
19. CLSI EP5: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices, 2nd Ed, Villanova PA
20. CLSI EP7-A2: Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline, 2nd Ed. (2005).
21. 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, EE. UU.
Llamada gratuita (EE. UU.): 1-800-286-2111, opción 2
Internacional: +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058

Página Web: www.zeusscientific.com

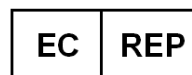
AtheNA Multi-Lyte y **SAVE Diluent** son marcas registradas de ZEUS Scientific, Inc.

Para consultas al Servicio de atención al cliente en EE.UU., contacte con su distribuidor local.

Para consultas al Soporte técnico, contacte con ZEUS Scientific, llame de forma gratuita o escriba a support@zeusscientific.com.

Para consultas al Servicio de atención al cliente y al Soporte técnico desde fuera de EE.UU., contacte con su distribuidor local.

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



EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands