

INSTRUCCIONES DE USO

ES

Anti-HSV-1 & 2 IgM

REF

9Z9771M
SM9Z9771M

IVD



Rx Only



APLICACIÓN

El Anti-HSV-1 & 2 IgM son sistemas de prueba basados en ELISA diseñados para la determinación cualitativa de anticuerpos de tipo IgM contra el virus del herpes simple (VHS) en suero humano. Los sistemas de pruebas están diseñados para la evaluación de evidencias serológicas de infección primaria o reactivada por VHS, y son para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

Las infecciones por VHS se clasifican en primarias y recurrentes. Tras la primera infección, se establece una infección latente en las neuronas sensoras, y la infección recurrente está provocada por la reactivación de la infección latente (2). Las infecciones recurrentes suelen ser menos graves y duran menos que la primera infección (1). Las infecciones por VHS suelen localizarse en el lugar donde se produjo la infección inicial. No obstante, las personas con sistemas inmunológicos disminuidos pueden sufrir infecciones locales graves o diseminadas. Entre dichas personas se incluyen los neonatos y los pacientes sometidos a terapia inmunosupresiva, como los receptores de trasplantes y los enfermos de cáncer (1,2).

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). Entre el 75 y el 90% de las personas en situación socioeconómica baja adquieren los anticuerpos contra el VHS antes de cumplir los 10 años de edad (5,7). En personas de situación socioeconómica más favorecida, entre el 30 y el 40% son seropositivos al alcanzar los 15 años de edad (5).

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). A diferencia del citomegalovirus, el VHS no suele cruzar la placenta para infectar al feto *in utero* (1). El VHS se transmite de la madre al neonato en el momento del parto (1). El lactante adquiere la infección al atravesar un canal del parto infectado o si las membranas han estado rotas más de seis horas (6). 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).

Los lactantes infectados con VHS parecen normales en el momento del parto, pero casi siempre desarrollan síntomas durante el periodo neonato (1,5). La infección neonatal por VHS puede permanecer localizada o diseminarse (1,5). La infección localizada puede afectar a una o a varias zonas a la vez. Entre ellas, la piel, los ojos, la boca o el sistema nervioso central. La infección diseminada se manifiesta por neumonitis, hepatitis, coagulopatía intravascular diseminada y encefalitis (1,5). Entre los lactantes con VHS neonatal, aproximadamente la mitad morirá si no se somete a tratamiento, y casi la mitad de los lactantes que sobreviven desarrollarán graves secuelas neurológicas u oculares (3).

Los procedimientos serológicos pueden resultar útiles para el diagnóstico de infecciones primarias por VHS, así como para determinar evidencias de infecciones anteriores por VHS. El diagnóstico de la infección primaria se lleva a cabo mediante la demostración de la seroconversión o de un aumento significativo en títulos entre sueros comparados de pacientes agudos y convalecientes (2,4). Los procedimientos serológicos no son tan útiles cuando se trata de diagnosticar una infección recurrente por VHS, ya que sucede con frecuencia que las infecciones recurrentes no se reflejan en un cambio en niveles de anticuerpos (2,4). Además, entre las personas que sufren una infección por VHS-2 por primera vez y ya experimentaron una infección por VHS-1 anteriormente en la infancia, es posible que el incremento en anticuerpos específicos anti-VHS-2 sea reducido o no llegue a producirse (2,4).

Se han diseñado varios procedimientos serológicos para la detección de anticuerpos anti-VHS. Entre dichos procedimientos se incluye la fijación del complemento, la inmunofluorescencia indirecta, la neutralización en placa y ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a

enzimas) (2,4,6). Engvall y Perlman fueron los primeros en describir el procedimiento ELISA, y desde entonces se ha utilizado en la detección de una amplia variedad de diferentes antígenos y anticuerpos (10-12). En comparación con otras pruebas serológicas, la prueba ELISA puede ser un método muy específico, sensible y fiable para detectar anticuerpos contra el VHS (6, 13 y 14). El procedimiento ELISA permite hacer una determinación objetiva del estado de los anticuerpos en una sola dilución de la muestra en prueba y es adecuado para investigar números grandes de muestras de pacientes.

Los anticuerpos de alta afinidad de tipo IgG anti-VHS que estén presentes en una muestra pueden interferir en la detección de anticuerpos específicos de tipo IgM (15,20). Debido a su alta afinidad, los anticuerpos de tipo IgG pueden tener preferencia para fijarse al antígeno del VHS, lo que puede producir resultados negativos falsos de anticuerpos de tipo IgM (15). Además, si está presente el factor reumatoide junto con IgG específica del antígeno, ambos pueden fijarse entre sí, lo que produciría resultados positivos falsos de anticuerpos de tipo IgM (16). Estos dos problemas pueden evitarse si se elimina la inmunoglobulina IgG de la muestra antes de analizarla para detectar la presencia de anticuerpos de tipo IgM (17-20). Se han utilizado varios métodos diferentes para separar los anticuerpos de tipo IgG. Entre dichos métodos se incluye el filtrado mediante gel (17), la absorción con proteína A (18), la cromatografía de intercambio de iones (19), y la precipitación de la inmunoglobulina IgG con suero de anti-IgG humana (20).

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El Anti-HSV-1 & 2 IgM está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgM contra VHS 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 del VHS. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

- Los sueros de la prueba se diluyen con el diluyente de muestra que se proporciona. El diluyente de muestra contiene anti-IgG humana, la cual precipita y elimina la IgG y el factor reumatoide de la muestra, de forma que la IgM pueda reaccionar libremente con el 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.
- 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.
- Los micropocillos que contienen conjugado de peroxidasa inmovilizado se incuban con solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato por la peroxidasa produce un cambio de color. Transcurrido un tiempo, se detiene la reacción y se mide fotométricamente la intensidad del color de la solución. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra original analizada.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

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

Componente del kit	Cantidad	Descripción
		
	1	Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con los antígenos de VHS-1 (cepa MacIntyre) y de VHS-2 (cepa G producida en E6 – 20% de pureza) desactivados. Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.
	1	Conjugado: anti-IgM humana (específica de la cadena κ) de cabra conjugada con peroxidasa de rábano. Frasco de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.
	1	Control positivo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón rojo. Concentrado 21X.
	1	Calibrador (suero humano): vial de 0,5 ml con tapón azul. Concentrado 21X.
	1	Control negativo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón verde. Concentrado 21X.

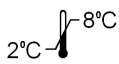
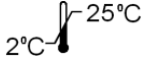
DIL	SPE	1	Diluyente de la muestra: frasco de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato. Solución de color púrpura. Listo para usar.
SOLN	TMB	1	TMB: frasco de 15 ml de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
SOLN	STOP	1	Solución para detener la reacción: frasco de 15 ml con tapón rojo con H ₂ SO ₄ 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
WASH	10X	1	Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. 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.

NOTA: 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.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- 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.**
- Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
- Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud entre 50 y 200 µl.
- Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
- Frasco de lavado o sistema de lavado de micropocillos.
- Agua destilada o desionizada.
- Probeta graduada de un litro.
- Pipetas serológicas.
- Puntas de pipeta desechables.
- Toallas de papel.
- Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
- 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

PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No inhale los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
- 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.
- 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 (23).

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.

RECOGIDA 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 (20, 21). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
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 (24).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente ($20 - 25^{\circ}\text{C}$).
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: $10\ \mu\text{l}$ de suero + $200\ \mu\text{l}$ de diluyente para muestras) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente.
4. A cada micropocillo se añaden $100\ \mu\text{l}$ 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 $100\ \mu\text{l}$ 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 ($20 - 25^{\circ}\text{C}$) 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 $300-350\ \mu\text{l}$ /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 $100\ \mu\text{l}$ 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 ($20 - 25^{\circ}\text{C}$) durante 25 ± 5 minutos.
10. Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
11. Agregue $100\ \mu\text{l}$ 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 ($20 - 25^{\circ}\text{C}$) entre 10 y 15 minutos.
13. Detenga la reacción añadiendo $50\ \mu\text{l}$ 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 μ l/micropocillo.
3. $\longrightarrow$ Incube durante 25 ± 5 minutos.
4. Lave.
5. Añada el conjugado - 100 μ l/micropocillo.
6. $\longrightarrow$ Incube durante 25 ± 5 minutos.
7. Lave.
8. Añada la TMB - 100 μ l/micropocillo.
9. $\longrightarrow$ Incube durante 10 - 15 minutos.
10. Añada la solución para detener la reacción - 50 μ l/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 un blanco de reactivo, el control negativo y el control positivo.
2. 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.
3. El valor medio de la DO del calibrador, del control negativo y del control positivo deben quedar dentro de los intervalos siguientes:

Intervalo de DO

Control negativo	$\leq 0,250$
Calibrador	$\geq 0,300$
Control positivo	$\geq 0,500$

- a. El valor de la DO para el control negativo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser $\leq 0,9$.
- b. El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser $\geq 1,25$.
- c. Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
4. Los controles negativo y positivo sirven para verificar fallos sustanciales de los reactivos, pero no aseguran la precisión en el límite de referencia de la prueba.
5. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.
6. Consulte el documento C24 del CLSI: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures (Control de calidad estadístico para procedimientos de determinación cuantitativa) para obtener información sobre las prácticas de control de calidad apropiadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. Cálculos

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

Ejemplo:	DO media del calibrador	=	0,793
	Factor de corrección (FC)	=	0,25
	Límite de referencia de la DO	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$

$$\begin{aligned}\text{DO de muestra desconocida} &= 0,432 \\ \text{Valor índice/cociente de DO de la muestra} &= 0,432/0,198 = 2,18\end{aligned}$$

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

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

- Un cociente de DO $\leq 0,90$ indica que no se ha detectado una cantidad significativa de anticuerpos de tipo IgM contra VHS-1 o VHS-2. Un resultado negativo indica que no hay infección actual ni reactivada por VHS-1 o VHS-2.
- Un cociente de DO $\geq 1,10$ indica que se han detectado anticuerpos de tipo IgM específicos contra VHS-1 o VHS-2. Este sistema de pruebas no permite distinguir entre VHS-1 y VHS-2. Los valores positivos indican una infección primaria o reactivada por VHS-1 o VHS-2.
- 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.
- Las muestras obtenidas demasiado temprano durante una infección primaria pueden no tener niveles detectables de anticuerpos IgM. Si se sospecha de la existencia de una infección primaria, obtenga otra muestra transcurridos 7-14 días para someterla a prueba en el mismo ensayo junto con la muestra original, a fin de determinar la seroconversión.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Un resultado negativo no descarta una infección primaria o reactivada por VHS-1 o VHS-2, ya que es posible que las muestras se hayan tomado en una fase demasiado temprana de la infección, o que los títulos de IgM hayan descendido a niveles no detectables.
- Los anticuerpos de tipo IgG específico contra el VHS pueden competir con los anticuerpos de tipo IgM por los sitios de unión al antígeno y provocar resultados negativos falsos. Si está presente el factor reumatoide junto con los anticuerpos de tipo IgG específicos del VHS pueden producirse resultados positivos falsos. El diluyente de la muestra contiene un absorbente que elimina los anticuerpos de tipo IgG de las muestras y reduce significativamente la incidencia de los resultados falsos.
- Pueden producirse respuestas de anticuerpos IgM heterotípicos en pacientes infectados por el virus de Epstein-Barr que produzcan resultados positivos falsos en el Anti-HSV-1 & 2 IgM.
- El anticuerpo de tipo IgM específico contra el VHS puede reaparecer durante la reactivación de la infección por VHS (1,2,3).
- Interprete los resultados del Anti-HSV-1 & 2 IgM de forma conjunta con la situación clínica del paciente y con los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.
- En pacientes inmunocomprometidos, la capacidad de producir una respuesta de los anticuerpos de tipo IgM puede verse dificultada, y los anticuerpos de tipo IgM específicos contra el VHS pueden producir resultados negativos falsos durante una infección activa.
- La presencia continua o el nivel de anticuerpos no puede utilizarse para determinar el éxito o el fracaso de la terapia.
- No se han establecido las características de funcionamiento en neonatos, lactantes o sangre del cordón umbilical.
- Las características de funcionamiento no se han establecido para mediciones visuales de los resultados.
- El Anti-HSV-1 & 2 IgM no están diseñados para sustituir al aislamiento y/o la identificación de virus.
- Debido a la presencia de anticuerpos comunes compartidos, las infecciones por un tipo de VHS en presencia de anticuerpos contra el tipo heterólogo, pueden producir una respuesta anamnésica con el anticuerpo preexistente de forma que éste sea más elevado que el título de anticuerpos del agente de la infección existente en la actualidad. Por este motivo, el diagnóstico definitivo del tipo de VHS deberá realizarse mediante aislamiento viral.
- Las características de funcionamiento del ensayo no se han establecido para otras matrices que no sean suero.
- La prevalencia del analito afecta al valor predictivo del ensayo.

RESULTADOS ESPERADOS

Para establecer o calcular el índice esperado de reactividad, se analizaron 219 muestras en dos laboratorios clínicos. Esto representó dos grupos de muestras; 114 muestras clínicas que se enviaron al laboratorio para someterlas a análisis serológico rutinario de VHS, y 105 muestras al azar de donantes normales. Respecto a la población clínica, 48/114 (42,1%) fueron positivas, 56/114 (49,1%) fueron negativas y 10/114 (8,8%) ofrecieron resultados dudosos. Respecto a la población normal, 22/105 (21,0%) fueron positivas, 70/104 (66,7%) fueron negativas y 13/105 (12,4%) ofrecieron resultados dudosos.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. Estudio comparativo

Se llevaron a cabo estudios comparativos para demostrar la equivalencia del Anti-HSV-1 & 2 IgM con los resultados combinados de otros dos sistemas de pruebas ELISA disponibles en el mercado (VHS-1 y VHS-2). El funcionamiento del Anti-HSV-1 & 2 IgM se evaluó en una investigación desarrollada en dos laboratorios clínicos. Se sometieron a análisis 219 muestras, 100 en el laboratorio uno y 119 en el laboratorio dos. Las muestras analizadas en el laboratorio uno incluyeron 50 muestras normales y 50 muestras clínicas. Las muestras analizadas en el laboratorio dos incluyeron 55 muestras normales y 64 muestras clínicas. En lo que respecta a las muestras clínicas, había un total de 20 muestras de mujeres en edades comprendidas entre 17 y 38 años. Los resultados del estudio comparativo se resumen en las Tablas 1 a 3 siguientes:

Tabla 1: Laboratorio clínico uno		Anti-HSV-1 & 2 IgM			
		Negativo	Dudoso *	Positivo	Total
Sistemas de pruebas ELISA comerciales (Combinados)	Negativo	68	1	13	82
	Dudoso*	0	0	0	0
	Positivo	4	0	14	18
	Total	72	1	27	100

Sensibilidad relativa = $14/18 = 77,8\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 58,6% a 97,0%

Especificidad relativa = $68/81 = 84,0\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 76,0% a 91,9%

Concordancia relativa = $82/99 = 82,8\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 75,4% a 90,3%

Tabla 2: Laboratorio clínico dos		Anti-HSV-1 & 2 IgM			
		Negativo	Dudoso*	Positivo	Total
Sistemas de pruebas ELISA comerciales (Combinados)	Negativo	66	1	2	69
	Dudoso*	0	0	0	0
	Positivo	13	2	35	50
	Total	79	3	37	119

Sensibilidad relativa = $35/48 = 72,9\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 60,3% a 85,5%

Especificidad relativa = $66/88 = 97,1\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 93,0% a 100%

Concordancia relativa = $101/116 = 87,1\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 81,0% a 93,2%

Tabla 3: Laboratorios clínicos combinados		Anti-HSV-1 & 2 IgM			
		Negativo	Dudoso*	Positivo	Total
Sistemas de pruebas ELISA comerciales (Combinados)	Negativo	134	2	15	151
	Dudoso**	0	0	0	0
	Positivo	17	2	49	68
	Total	151	4	64	219

Sensibilidad relativa = $49/66 = 74,2\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 63,7% a 84,8%

Especificidad relativa = $134/149 = 89,9\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 85,1% a 94,8%

Concordancia relativa = $183/215 = 85,1\%$, Intervalo de confianza de 95% = de 80,4% a 89,9%

** Datos excluidos de los cálculos

NOTA: Tenga en cuenta que el término relativo se refiere a la comparación de los resultados de este ensayo con los de un ensayo similar. No se ha intentado correlacionar los resultados del ensayo con la ausencia o la presencia de enfermedad. No se puede juzgar la precisión del ensayo comparado para predecir la existencia de enfermedad.

2. Reproducibilidad

La reproducibilidad se determinó internamente. Se analizaron seis muestras, con valores que iban entre positivo fuerte y negativo. Además de estos seis componentes del panel, se incluyeron los controles positivo y negativo como componentes adicionales de precisión. Cada una de las muestras se analizó por triplicado una vez al día, durante cada uno de los tres días que duró la prueba. Los datos resultantes se utilizaron para calcular tanto la precisión intraensayo como interensayos.

Lote A	Intraensayo (3)						Interensayos (n=24)	
	Día 1		Día 2		Día 3			
Número de muestra	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV
Muestra 1	3,36	2,7	3,13	11,3	3,18	3,7	3,22	6,8
Muestra 2	2,52	3,0	1,99	9,3	2,09	7,3	2,20	12,5
Muestra 3	1,97	1,8	1,88	7,4	2,00	1,9	1,95	4,7
Muestra 4	1,05	2,5	0,98	9,3	1,00	9,4	1,01	7,4
Muestra 5	0,18	11,5	0,38	6,5	0,25	13,4	0,27	33,8
Muestra 6	0,28	2,4	0,22	17,8	0,22	1,9	0,24	14,6
NC	0,08	21,2	0,13	11,2	0,00	0,0	0,07	84,0
PC	2,19	1,9	2,09	0,8	2,12	2,6	2,13	2,5

Lote B	Intraensayo (3)						Interensayos (n=24)	
	Día 1		Día 2		Día 3			
Número de muestra	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV
Muestra 1	3,72	2,0	3,20	4,6	3,08	5,5	3,33	9,6
Muestra 2	2,29	3,8	1,89	4,6	1,64	13,7	1,94	16,2
Muestra 3	1,58	10,9	1,48	7,8	1,29	5,6	1,45	11,6
Muestra 4	0,88	10,6	0,87	3,5	0,81	5,5	0,85	7,2
Muestra 5	0,40	16,0	0,27	21,0	0,18	39,2	0,28	39,2
Muestra 6	0,17	3,6	0,12	39,2	0,07	68,0	0,12	44,1
NC	0,04	63,0	0,20	33,1	0,16	29,3	0,13	63,9
PC	2,46	2,7	2,09	6,0	2,16	4,0	2,24	8,5

Lote C	Intraensayo (3)						Interensayos (n=24)	
	Día 1		Día 2		Día 3			
Número de muestra	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV	Cociente medio	% CV
Muestra 1	3,18	2,9	3,69	5,2	3,02	2,4	3,30	9,8
Muestra 2	1,31	1,7	2,32	3,0	2,07	1,0	1,90	24,0
Muestra 3	2,21	3,2	2,34	6,2	1,98	3,6	2,17	8,3
Muestra 4	1,14	6,6	1,19	8,5	0,99	6,0	1,11	10,5
Muestra 5	0,27	3,0	0,36	28,3	0,29	22,3	0,30	23,6
Muestra 6	0,28	0,6	0,28	5,4	0,22	9,3	0,26	12,7
NC	0,13	11,8	0,15	15,7	0,30	7,3	0,19	43,0
PC	2,15	0,9	2,51	3,7	2,11	2,7	2,26	8,9

3. Reactividad cruzada

Para investigar la posibilidad de reacciones positivas debidas a reacciones cruzadas con otros anticuerpos, se analizaron veinticuatro muestras con IgM reactiva a diferentes anticuerpos virales (AT-VEB, ACV-VEB, CMV y rubeola) con el Anti-HSV-1 & 2 IgM. Dieciocho de las veinticuatro (18/24) fueron negativas en actividad de los anticuerpos de tipo IgM contra VHS-1 y/o VHS-2, mientras que seis de las veinticuatro (6/24) fueron positivas. En lo que respecta a las muestras positivas, cuatro pertenecían al grupo ACV-VEB y dos eran del grupo CMV. Se realizaron pruebas por inmunofluorescencia en las muestras positivas para confirmar la reactividad con el VHS-1 y con el VHS-2. Solamente una (del grupo ACV-VEB) fue positiva en la prueba por IFA.

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: Principles and Practice, Vol II, Viral, Rickettsial and Chlamydial Diseases*, Springer-Verlag. Berlin, pp 211, 1988.
3. Nahmias AJ, Dannenberg J, Wickliffe C, and Muther J: Clinical aspects of infection with Herpes Simplex viruses I and II. In: AJ Nahmias, WR Dowdle and RF Schinazi, eds., *The Human Viruses, and Interdisciplinary Perspective*, Elsevier/North - Holland Publishing Co., New York, pp 2, 1980.
4. Drew WL and Rawls WE: Herpes Simplex viruses, In: EH Lennette, A Balows, WJ Hausler and HJ Shadomy, eds., *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed., American Society for Microbiology, Washington, DC, pp 705, 1985.
5. Whitley RJ and Hutto C: Neonatal Herpes Simplex virus infections. *Ped. Rev.* 7:119, 1985.
6. Denoyel G, Gaspar A, and Novyrigat C: Enzyme immunoassay for measurement of antibodies to Herpes Simplex virus infection: Comparison of complement fixation, immunofluorescent-antibody, and neutralization techniques. *J. Clin. Micro.* 11:114-119, 1980.
7. Nahmias AJ, Josey WE, Naib AZ, Luce CF, and Duffey A: Antibodies to Herpes virus hominis types 1 and 2 in humans. I. Patients with genital herpes 2 infections. *Am. J. epidem.* 91:539, 1970.
8. Rawls WE, Gardner HL, Flanders RW, Lowry SP, Kaufman RH, and Melnick JL: Genital herpes in two social groups. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 110:682, 1971.
9. McClung H, Seth P, and Rawls WE: Relative concentrations in human sera of antibodies to cross-reacting and specific antigens of Herpes Simplex virus types 1 and 2. *Am. J. Epidem.* 104:192, 1976.
10. Engvall E, and Perlman P: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochem.* 8:874, 1971.
11. Engvall E, and Perlman P: Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen coated tubes. *J. Immunol.* 109:129, 1972.
12. Voller A, Bartlett A, and Bidwell DE: Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *J. Clin. Path.* 31:507, 1978.
13. Cremer NE, Cossen CK, Hanen CV, and Shell GR: Evaluation and reporting of enzyme immunoassay determinations of antibody to Herpes Simplex virus in sera and cerebrospinal fluid. *J. Clin. Micro.* 15:815, 1982.
14. Gilman SC, and Docherty JJ: Detection of antibodies specific for herpes Simplex virus in human sera enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Infect. Dis.* 136:5286, 1977.
15. Fraser KB, Shirodaria PV, and Stanford CF: Fluorescent staining and human IgM. Salonen E-M, Vaheri A, Suni J, and Wager O: Rheumatoid factor in acute viral infections: Interference with determination of IgM, IgG and IgA antibodies in an enzyme immunoassay. *J. Infect. Dis.* 142:250-255, 1980.
16. Pyndiah N, Krech U, Price P, and Wilhelm J: Simplified chromatography separation of immunoglobulin M from G and its application to Toxoplasma indirect immunofluorescence. *J. Clin. Micro.* 9:170-174, 1979.
17. Sumaya CV, Ench Y, and Pope RM: Improved test for IgM antibody to Epstein-Barr virus using an absorption step with *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.* 146, 518-523, 1982.
18. Johnson RB, and Libby R: Separation of immunoglobulin M (IgM) essentially free of IgG from serum for use in systems requiring assay of IgM-type antibodies without interference from rheumatoid factor. *J. Clin. Micro.* 12:451-454, 1980.
19. Joassin L, and Reginsster M: Elimination of nonspecific cytomegalovirus immunoglobulin M activities in enzyme-linked immunosorbent assay by using antihuman immunoglobulin G. *J. Clin. Micro.* 23:576-581, 1984.
20. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Third Edition: Approved Standard (1991). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
21. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens: NCCLS H18-A, 1999.
22. Charnesky MA, Ray CG and Smith TF: Laboratory diagnosis of viral infections. Cumitech 15, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1982.
23. U.S. Department of Labor (OSHA): Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens. Final Rule. 21CFR 1910.1030.
24. 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.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos pueden haber sido utilizados en el etiquetado de este producto.

Símbolo	Descripción	Símbolo	Descripción
	Fabricante		Mantener alejado de la luz solar
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	PLATE	Placa
REF	Número de catálogo	CONJ	Conjugado
Σ_n	Suficiente para n pruebas	CTRL +	Control positivo
LOT	Código de lote	CTRL -	Control negativo
	Usar antes de	CAL	Calibrador
	Limitaciones de temperatura de almacenamiento	DIL SPE	Diluyente de la muestra
CONT	Contenido	SOLN TMB	TMB
UDI	Identificador único de dispositivo	SOLN STOP	Solución de detención
	Consulte las advertencias y precauciones	WASH 10X	Solución amortiguadora de lavado (10X)
	Consulte las instrucciones electrónicas de uso	ES	Español
	Guardar en posición vertical	Made in the USA	Fabricado en EE. UU.
RX Only	Aplicable en Estados Unidos: Producto de diagnóstico in vitro de prescripción		Corrosivo
	Comunicación de riesgos	EC REP	Representante autorizado de la Comisión Europea
	Conformidad con la Directiva 98/79		



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2
International: +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058
Website: www.zeusscientific.com

EC REP

EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Para atención al cliente en EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Para soporte técnico en EE. UU., póngase en contacto con ZEUS Scientific, llame al número gratuito o envíe un correo electrónico a support@zeusscientific.com.
Para consultas de atención al cliente y soporte técnico fuera de EE. UU., póngase en contacto con su filial o distribuidor autorizado de Sebia.

©2025 ZEUS Scientific. Todos los derechos reservados.