

# Foresight® Juego de Examen de HSV 1/2 IgG en EIA Inserto

*Un inmunoensayo enzimático (EIA) para la detección cualitativa de anticuerpos IgG al Virus Herpes Simple (VHS) tipo 1 y 2 en suero o plasma humano. Para uso profesional como diagnóstico in Vitro únicamente.*

## USO PROPUESTO

El Juego de Examen de VHS 1/2 IgG en EIA es un inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa de anticuerpos de IgG a VHS tipo 1 ó 2 en suero o plasma humano. Se usa como filtrado y como ayuda en el diagnóstico de posible infección de VHS 1/2.

## SUMARIO

El Virus de Herpes Simple (VHS) es un virus ADN encapsulado, perteneciente a la familia de virus Herpes caracterizada en dos serotipos distintos, VHS 1 Y VHS 2. La infección con VHS 1 causa típicamente infecciones orales, mientras que el VHS 2 afecta típicamente infecciones genitales o de neonatos. Las infecciones primarias de VHS 1 ocurren frecuentemente en la niñez sin presentar síntomas. Si se presentan síntomas, puede causar serias infecciones a las encías, boca, lengua, cara y/o faringe. La reactivación del virus puede llevar a calentura debido a ampollas o resfriados extremos como también a herpes ocular. La mayoría de infección primaria de VHS 2 ocurre por contacto sexual, en raras ocasiones ocurre antes del comienzo de la actividad sexual. El VHS 2 es típicamente asintomático pero puede presentarse como herpes genital, caracterizado por lesiones bilateralmente distribuidas en el área genital acompañadas de fiebre, limfadenopatía inguinal y disuria. El VHS genital primario es causado principalmente por el VHS 2, sin embargo el 15% se puede atribuir a VHS 1. Debido a que el VHS 1 casi no produce infecciones recurrentes, el 99% de herpes genital recurrente es causado por VHS 2.<sup>1</sup> Una de las más serias consecuencias de herpes genital es el herpes neonatal.<sup>2</sup> Casi todas las infecciones de VHS 2 de los recién nacidos se adquieren durante el parto a través de un canal de parto infectado.<sup>3</sup> Sin terapia, los infantes no tratados tienen más del 70% de mortalidad con la mitad de los sobrevivientes desarrollando deterioro neurológico.<sup>1, 3</sup> La presencia de anticuerpos de IgG a VHS es indicativo de infección previa mientras un significativo incremento es indicativo de reactivación, de la infección corriente o reciente. La infección primaria se determina por la presencia de anticuerpos de IgM. El juego de Examen de VHS 1/2 IgG en EIA es un inmunoensayo para la detección cualitativa de la presencia de anticuerpos de IgG a VHS en muestras de suero o plasma.

## PRINCIPIO

El juego de Examen de VHS 1/2 IgG en EIA es un inmunoensayo enzimático de fase sólida basado en un principio indirecto para la detección cualitativa de anticuerpos de IgG a VHS en suero o plasma humano. La placa de micro celdas se cubre con antígenos recombinantes VHS 1 y VHS 2. Durante el examen, el Diluyente de la Muestra y la muestra se añaden al antígeno encubierto de la placa de micro celdas y luego se incuban. Si la muestra contiene anticuerpos a VHS 1 ó VHS 2, se unirán al antígeno encubierto en la placa de micro celdas para formar complejos de anticuerpos con su unión al inmovilizado-VHS 1. Si la muestra no contiene anticuerpos a VHS 1, no se formarán los complejos. Después de la incubación inicial se lava la placa de micro celdas para remover los materiales que no se han unido. Los anticuerpos IgG del conjugado enzimático anti-humano se añaden a la placa de micro celdas y luego se incuban. El conjugado-enzimático de anticuerpos anti-humanos IgG se unirá a los complejos del anticuerpo del antígeno inmovilizado-VHS presente. Después de la segunda incubación, se lava la placa de micro celdas para remover los materiales que no se han ligado. Se añaden los substratos A y B y luego se incuban para producir un color azul como indicativo de la cantidad de los anticuerpos VHS IgG presentes en la muestra. Se añade la solución de ácido sulfúrico a la placa de micro celdas para detener la reacción produciéndose un cambio de color de azul a amarillo. La intensidad de color, que corresponde a la cantidad de anticuerpos de VHS IgG presentes en la muestra, se mide con un lector de micro placas a 450/630-700nm o a 450nm.

## PRECAUCIONES

- Para uso profesional como diagnóstico in Vitro únicamente. No lo utilice después de la fecha de expiración.
- No mezcle los reactivos de otros juegos con diferentes números de lote.
- Evite la contaminación cruzada entre reactivos para asegurar exámenes con resultados válidos.
- Siga el procedimiento de lavado para asegurar un desempeño óptimo del ensayo.
- Use el Sellador de Placas para cubrir la placa micro celdas durante el tiempo de incubación y así minimizar la evaporación.
- Use una nueva punta de pipeta para el examen de cada muestra.
- Asegúrese que la parte inferior de la placa está limpia y seca y que no hay burbujas presentes en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que las celdas se sequen durante el ensayo.
- No toque la parte inferior de las celdas con la punta de las pipetas. No toque el fondo de la placa de micro celdas con la yema de los dedos.
- No permita que vapores de hipoclorito de sodio de lejía de cloro u otras fuentes haga contacto con la placa de micro celdas durante el ensayo ya que el color de la reacción puede inhibirse.
- Todo el equipo debe ser usado con cuidado, se debe calibrar regularmente y realizar el mantenimiento siguiendo las instrucciones del fabricante del equipo.Avoid cross contamination between reagents to ensure valid test results.

## HEALTH AND SAFETY INFORMATION

- Algunos componentes de este juego contienen derivados de sangre humana. Ningún método conocido de examen puede ofrecer una completa seguridad que productos derivados de sangre humana no transmitirán agentes infecciosos. Por lo tanto, todos los derivados de sangre deben considerarse como potencialmente infecciosos. Se recomienda que estos reactivos y las muestras humanas sean manipulados utilizando buenas prácticas de trabajo de laboratorio ya establecidas.
- Utilice guantes descartables y otras vestimentas protectoras como sacos o mandiles de laboratorio y protección para los ojos mientras manipula los juegos de reactivos y las muestras. Lávese las manos concienzudamente al finalizar.
- Se incluye en el Conjugado ProCin™ 300 como preservativo, Solución Lavadora Buffer Concentrada, Diluyente de la Muestra, Substratos, Calibradores y Controles. Evite cualquier contacto con la piel o los ojos.
- No coma, beba o fume en el área donde se manipulan las muestras o los juegos de reactivos. No pipetear con la boca.
- Evite cualquier contacto del Substrato A, Substrato B y la Solución de Detención con la piel o la mucosa. La Solución de Detención contiene 2M de ácido sulfúrico que es un ácido fuerte. Si ocurre un derrame, limpie inmediatamente con grandes cantidades de agua. Si el ácido hace contacto con la piel o los ojos, echeles abundante agua y solicite asistencia médica.
- Los equipos que no son descartables deben esterilizarse después de ser usados. El método preferido es el de autoclave durante 1 hora a 121°C. Para los descartables se puede usar el mismo método o se pueden incinerar. No autoclave material que contenga hipoclorito de sodio.
- Manipule y disponga de las muestras y material utilizado en el examen como si contuviesen agentes infecciosos. Observe precauciones establecidas contra daños de microbios durante todos los procesos y siga los procedimientos estándares para un apropiado deshecho de las muestras.
- Observe buenas prácticas de laboratorio al manipular productos químicos y material potencialmente infeccioso. Descarte todo material contaminante, material, muestras y reactivos de origen humano después de una apropiada descontaminación siguiendo las regulaciones locales, estatales y federales.

- Los ácidos neutralizados y otros líquidos deben ser descontaminados añadiendo suficiente volumen de hipoclorito de sodio hasta obtener una concentración final de al menos 1,0%. Para asegurar una descontaminación efectiva una exposición de 30 minutos a sodio hipoclorito al 1,0% es necesaria.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Los kits deben ser almacenados a 2-8°C al ser recibidos. Todos los reactivos cerrados son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la caja si se almacenan a temperatura entre 2-8°C. Una vez abierto, todos los reactivos son estables hasta 1 mes después de la fecha de la primera apertura, si se almacenan a temperatura entre 2-8°C. Regrese la temperatura de los reactivos a 2-8°C, inmediatamente después de su uso.
- Permita que la bolsa sellada alcance la temperatura ambiente antes de abrir la bolsa y retire el número de tiras necesario para evitar condensación de la placa de microtitulación. Las tiras no utilizadas deben ser almacenados en la bolsa con cierre original con el desecante suministrado a 2-8°C y se puede utilizar dentro de 1 mes a partir de la fecha de apertura. Regrese las restantes tiras no utilizadas y desecante suministrado a la bolsa sellable original, presione firmemente el sello de cierre para sellar la bolsa completamente y de inmediato conserve a 2-8°C.
- La Solución Lavadora Buffer Concentrada puede ser almacenada a temperatura ambiente para evitar cristalización. Si hay cristales presentes caliente la solución a 37°C. La Solución Lavadora Buffer de Trabajo se estable por 2 semanas a temperatura ambiente.
- No exponga los reactivos especialmente los substratos a una luz fuerte o humos de hipoclorito durante el almacenamiento o durante los pasos de incubación.
- No almacene la Solución de Detención en un plato superficial ni lo retorne a la botella original después de usarlo.

## COLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- El Juego de Examen de VHS 1/2 IgG puede realizarse únicamente usando suero o plasma humano colectado de sangre total venosa.
- Pueden usarse tubos colectores de EDTA, sodio heparinizado, y ACD, para colectar sangre total venosa y muestras de plasma. El preservativo ázida de sodio inactiva al peróxido de rábano picante y puede conducir a resultados erróneos.
- Para evitar hemólisis separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible. Muestras gruesas hemolíticas, lipídicas o turbias no deben usarse. Muestras con partículas extensas deben ser clarificadas por centrifugación antes de ser usadas. No utilice muestras con partículas de fibrina o contaminadas por crecimiento microbiano.
- No deje muestras a temperatura ambiente por periodos prolongados. Las muestras de suero o plasma deben almacenarse a 2-8°C hasta por 1 día antes de ser examinadas. Para largos periodos de almacenamiento, las muestras deben mantenerse congeladas a menos de -20°C.
- Las muestras deben estar a temperatura ambiente antes de examinarlas. Muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y mezcladas bien antes de examinarlas. Las muestras no deben ser congeladas y descongeladas repetidamente.
- Si las muestras van a ser embarcadas, deben ser empacadas de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

## REACTIVOS Y COMPONENTES

No.	Reactivo	Componente Descripción	Cantidad		
			96 celdas/juego	480 celdas/juego	48 celdas/juego
	VHS 1/2 IgG Placa Micro celdas	Placa Micro celdas cubierta con antígeno recombinante VHS 1 y antígeno recombinante VHS 2.	1 placa (96 celdas/placa)	5 placas (96 celdas/placa)	1 placa (48 celdas/placa)
1	VHS 1/2 IgG Conjugado	Anticuerpo Anti-humano IgG ligado a peroxidasa; Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 12 mL	5 x 12 mL	1 x 6 mL
2	Solución Lavadora Buffer Concentrada (25x)	Tris-HCl buffer contiene 0,1% Tween 20; Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 50 mL	5 x 50 mL	1 x 25 mL
2A	Diluyente de la Muestra	Tris buffer; Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 12 mL	5 x 12 mL	1 x 6 mL
3	Substrato A	Citratato-Fosfato buffer contiene hidrógeno peróxido; Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 8 mL	5 x 8 mL	1 x 4 mL
4	Substrato B	Buffer containing tetrametilbenzidina (TMB); Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 8 mL	5 x 8 mL	1 x 4 mL
5	Solución de Detención	2M Ácido sulfúrico	1 x 8 mL	5 x 8 mL	1 x 4 mL
6	VHS 1/2 IgG Control Negativo	Suero humano diluido no contiene anticuerpos VHS 1/2 IgG; Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 1 mL	5 x 1 mL	1 x 0,5 mL
7	VHS 1/2 IgG Calibrador de la Línea de Corte	Suero humano diluido con bajo titre de anticuerpos IgG contra VHS; Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 1 mL	5 x 1 mL	1 x 0,5 mL
8	VHS 1/2 IgG Control Positivo	Suero humano diluido con alto titre de anticuerpos IgG contra VHS; Preservativo: 0,1% ProCin™ 300	1 x 1 mL	5 x 1 mL	1 x 0,5 mL
	Sellador de Placas Inserto		3	15	3
			1	1	1

## Materiales Requeridos Pero Que No Se Proveen

- Agua fresca destilada o desionizada
- Solución de descontaminación de hipoclorito de sodio
- Papel absorbente o papel toalla
- Baño maría o incubadora capaz de mantener 37°C ± 2°C
- Lavador calibrado automático o manual para placa de micro celdas capaz de aspirar y dispensar 350 µL/celda
- Guantes descartables
- Procesador automatizado (opcional)
- Micro pipetas selladas con puntas descartables capaces de dispensar 5, 50 y 100 µL
- Buretas graduadas para lavar el buffer diluido
- Mezclador Vortex para mezclar muestra (opcional)
- Cronómetro
- Reservorio para descartar reactivos
- Lector de micro placas calibrado para medir absorbancia a 450 nm con un filtro de referencia de 630-700 nm o sin filtro de referencia a 450 nm

## DIRECCIONES DE USO

Permita que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes del examen. El procedimiento debe seguirse estrictamente. El ensayo debe proceder hasta completarse sin límites de tiempo. Arregle los controles para que la celda A1 sea la celda del Blanco. Desde la celda A1, arregle los controles en una configuración horizontal o vertical. El procedimiento de abajo asigna celdas específicas en una configuración vertical. La configuración puede depender del software.

Paso	Procedimiento detallado	Procedimiento simplificado
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prepare La Solución Lavadora Buffer de Trabajo diluyendo La Solución Lavadora buffer Concentrada 1:25. Ponga el contenido de la botella que contiene el buffer de lavado concentrado en un cilindro graduado y llénelo con agua</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prepare La Solución Lavadora Buffer de Trabajo diluyendo La Solución Lavadora Buffer Concentrada 1:25</li> </ul>

Item	Absorbancia
Calibrador de la Línea de Corte: Celda D1	0,328
Calibrador de la Línea de Corte: Celda E1	0,354
Total de la Absorbancia del Calibrador de la Línea de Corte	0,328 + 0,354 = 0,682
Media de la Absorbancia del Calibrador de la Línea de Corte	0,682/2 = 0,341

  

Item	Absorbancia
Celda del Blanco	Absorbancia del Blanco debe ser < 0,050 si se lee a 450/630-700 nm Nota: Debe ser < 0,100 si se lee a 450 nm
Control Negativo	La Media de la Absorbancia después de la substracción del Blanco de la Absorbancia debe ser < 0,100
Calibrador de la Línea de Corte	La Media de la Absorbancia después de la substracción del Blanco de la Absorbancia debe ser ≥ 0,150
Control Positivo	La Media de la Absorbancia después de la substracción del Blanco de la Absorbancia debe ser ≥ 1,500

## PROCESAMIENTO AUTOMÁTICO

Se pueden efectuar procedimientos automáticos en EIA con micro placas, se debe realizar el ensayo después de la validación de los resultados para asegurar que sean equivalentes a los que se obtienen utilizando el método manual para las mismas muestras. Los tiempos de incubación pueden variar dependiendo de los procesos utilizados pero no programe tiempos menores de incubación que los que se señalan arriba. Cuando se usaran procesos automáticos en EIA en micro placas se recomienda validaciones periódicas para asegurar resultados apropiados.

## REQUERIMIENTOS DE VALIDACION Y CONTROL DE CALIDAD

- Calcule la Media de Absorbancia del Control Negativo, del Calibrador de la Línea de Corte y del Control Positivo con la referencia de la tabla de abajo.

### Ejemplo de Cálculación del Calibrador de la Línea de Corte

Item	Absorbancia
Calibrador de la Línea de Corte: Celda D1	0,328
Calibrador de la Línea de Corte: Celda E1	0,354
Total de la Absorbancia del Calibrador de la Línea de Corte	0,328 + 0,354 = 0,682
Media de la Absorbancia del Calibrador de la Línea de Corte	0,682/2 = 0,341

- Verifique los requisitos de validación de abajo para determinar si los resultados del examen son válidos.

Item	Validación de Requerimientos
Celda del Blanco	Absorbancia del Blanco debe ser < 0,050 si se lee a 450/630-700 nm Nota: Debe ser < 0,100 si se lee a 450 nm
Control Negativo	La Media de la Absorbancia después de la substracción del Blanco de la Absorbancia debe ser < 0,100
Calibrador de la Línea de Corte	La Media de la Absorbancia después de la substracción del Blanco de la Absorbancia debe ser ≥ 0,150
Control Positivo	La Media de la Absorbancia después de la substracción del Blanco de la Absorbancia debe ser ≥ 1,500

**NOTA:** Los resultados del examen se consideran inválidos si la validación de los requerimientos no se ha dado. Repita la prueba o contacte con su distribuidor local.

## INTERPRETACION DE RESULTADOS

### Cualitativo

Calcule el Valor del Índice para obtener los resultados cualitativos de la muestra.

- Si la prueba es válida, obtenga el valor de la Línea de Corte mediante la substracción del Blanco de Absorbancia de la Media de Absorbancia del Calibrador de la Línea de Corte. Vea un ejemplo del cálculo de la Línea de Corte abajo.

Item	Absorbancia
Absorbancia del Blanco: Celda A1	0,001
Valor de la Línea de Corte: Media de la Absorbancia del Calibrador de la Línea de Corte– Absorbancia del Blanco.	0,341 – 0,001 = 0,340

- Calcule el Índice del Valor dividiendo la Absorbancia de la Muestra entre el Valor de la Línea de Corte, luego lea los resultados teniendo como referencia a la interpretación de resultados de la tabla de abajo.

Item	Absorbancia
Muestra: Celda H1—Absorbancia del Blanco	2,336
Valor de la Línea de Corte	0,340
Valor del Índice: Muestra/ Valor de la Línea de Corte	2,336/0,340= 6,871

## Interpretación de Resultados - Cualitativo

Resultados	Cualitativo
	Valor del Índice
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Ambiguo*	≥ 0,9 y ≤ 1,1

**\*NOTA:** Cuando se dan resultados ambiguos, la muestra debe ser examinada nuevamente. Las muestras que después de haber sido examinadas nuevamente siguen dando resultados ambiguos deben ser confirmadas mediante un método alternativo. Si los resultados permanecen ambiguos colecta una nueva muestra en 2 semanas. Si la nueva muestra es positiva, se presume que la prueba es positiva.

## LIMITACIONES

- El juego de Examen de VHS 1/2 IgG en EIA se usa para la detección de anticuerpos IgG a VHS en suero y plasma humano. El diagnóstico de una enfermedad contagiosa no debe ser establecido basado en el resultado de una sola prueba. Exámenes posteriores, incluyendo exámenes confirmatorios, deben realizarse antes que la muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Muestras conteniendo precipitados pueden dar resultados inconsistentes.
- Como con todas las pruebas de diagnósticos, todos los resultados deben ser interpretados conjuntamente con otras informaciones clínicas disponibles al médico.
- Como con otros inmunoensayos sensibles, existe la posibilidad que los resultados negativos no se puedan repetir debido a un lavado inadecuado del examen inicial. Los resultados pueden ser afectados debido a procedimientos o errores instrumentales.
- El Control Positivo del juego del examen no debe ser usado para cuantificar la sensibilidad del ensayo. El Control Positivo se usa para verificar que los componentes del juego del examen son capaces de detectar una muestra positiva, siempre que el procedimiento sea seguido como se define en el inserto del juego, y las condiciones de almacenamiento se adhieran estrictamente a las instrucciones.

## CARACTERISTICAS DEL DESEMPEÑO

### Sensibilidad y Especificidad

El Juego de Examen de VHS 1/2 IgG en EIA ha identificado correctamente el desempeño de muestras de un panel titer mixto y ha sido comparado a una marca comercial de VHS 1 IgG y VHS 2 IgG en EIA líder en exámenes de EIA utilizando muestras clínicas. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del Juego de Examen de VHS 1/2 IgG en EIA es 98,6%, y la especificidad clínica de 98,0%.

### VHS 1/2 IgG EIA vs. Otro EIA

Método	Otro EIA		Resultados Totales
	Positivo	Negativo	
VHS 1/2 IgG EIA	Positivo	1	147
	Negativo	2	51
<b>Resultados Totales</b>	148	50	198

Sensibilidad Clínica: 98,6% (95,2-99,8%)\* Especificidad Clínica: 98,0% (89,4-99,9%)\*  
Acuerdo Completo: 98,5% (95,6-99,7%)\* \*95% Intervalo confidencial

### Reproducibilidad

**Intra-Ensayo:** Las corridas de precisión internas se han determinado utilizando, 10 réplicas de tres muestras, 2 bajo positivas y una medianamente positiva.  
**Inter-Ensayo:** Las corridas de precisión entre ensayos se han determinado mediante 3 ensayos independientes en las mismas 3 muestras: dos bajo positivas y una medianamente positiva. Tres diferentes lores del Juego de Examen de VHS 1/2 IgG en EIA fueron examinados utilizando estas muestras por un periodo de 5 días.

Muestra	Intra-Ensayo		Inter-Ensayo			
	Absorbancia Media/Umbral de Corte	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Absorbancia Media/Umbral de Corte	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
1	1,782	0,127	7,127	1,867	0,155	8,302
2	2,031	0,134	6,598	2,116	0,157	7,420
3	4,229	0,368	8,702	4,413	0,352	7,976

## BIBLIOGRAFIA

- Arvin, C, Prober. Herpes Simplex Viruses. In: Manual of Clinical Microbiology 6<sup>th</sup> Ed. (1995) 876-883.
- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. 2002. MMWR RR-6 2002:51.
- Whitley, R. Herpes Simplex Viruses. In: Fields Virology 3<sup>rd</sup> Ed. (1996) 2297-2231.

## Índice de Símbolos

	Consulte las instrucciones de uso		Exámenes por juego		Fabricante
	Para diagnóstico in Vitro únicamente		Usado por		Representante Autorizado
	Almacene a 2-8°C		Número de Lote		Catálogo #
	VHS 1/2 IgG		Substrato A		Substrato B
	Solución Lavadora Buffer (25x)		Conjugado		Control Positivo
	Calibrador de la Línea de Corte		Control Negativo		Sellador de Placas
	Placa micro celdas		Solución de Detención		Inserto



**ACON Laboratories, Inc.**  
10125 Mesa Rim Road,  
San Diego, CA 92121, USA



**MDSS GmbH**  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Germany

Número:1150518101  
Fecha efectiva: 2009-xx-xx