

Bio-Varicela Z. IgM

Inmunoensayo enzimático para la detección de Varicela Zoster IgM en suero o plasma.

INTENCIÓN DE USO

El kit VZV IgM ELISA se utiliza para la detección de anticuerpo VZV en suero o plasma humano.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El virus Varicella Zoster tiene como resultado la varicela, una enfermedad altamente contagiosa que se contagia por tocar ampollas o secreciones respiratorias, o bien por aire. Una persona permanece infectada entre uno o dos días antes de la erupción y 4 o cinco días luego de la misma, o hasta que las ampollas hayan empezado a cicatrizar. Los síntomas comienzan entre dos y tres semanas después del contagio e incluyen fiebre, cansancio y una erupción con picazón, con pequeñas ampollas que se secan y forman costra luego de dos a cuatro días. Consecuencias más severas, aunque poco frecuentes, pueden ser neumonía (especialmente en adultos), infecciones en piel o sangre, y encefalitis. Aproximadamente. Un 90% de los casos de varicela se dan en niños de entre 1 y 14 años de edad, y aproximadamente un 90% de la población sufrió de la enfermedad antes de los 20 años. La forma reactivada de la infección de VZV (herpes zoster) ocurre en adultos cuyo sistema inmunológico ha menguado, en niños expuestos a VZV durante el periodo perinatal o en los inmunocomprometidos. La infección de VZV durante el embarazo es poco frecuente que resulte en neumonía. La varicela puede ocurrir durante el embarazo en mujeres seropositivas a VZV. La infección de VZV durante el embarazo (especialmente entre las 13 y 20 semanas de gestación) puede tener resultados que van desde cicatrices en la piel o hipoplasia en la extremidades, hasta fallas sistémicas y muerte. Dado que los virus VZV y herpes simple (HSV) pueden reaccionar de forma cruzada, el cultivo viral puede utilizarse para detectar y diferenciar HSV de VZV, pero la prueba de PCR puede ser la más valiosa para diagnosticar y diferenciar infección activa. Los anticuerpos IgG pueden ser detectados 9 días después de la erupción de varicela y 10 días en el Zoster; la Inmuno-reactividad llega a un pico en un promedio de 66 y 27 días respectivamente. La respuesta IgM a la varicela es detectada entre 6 y 7 días después del comienzo y alcanza su pico en 14 días en promedio; la respuesta IgM al Zoster es detectable entre 8 y días después y alcanza su pico entre los 18 y 19 días.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El suero diluido del paciente es agregado a los micropozos recubiertos con antígeno purificado. El anticuerpo IgG específico, en caso de estar presente, se une al antígeno. Todos los materiales no unidos son lavados y el conjugado enzimático es agregado para unirse al complejo anticuerpo-antígeno, en caso de estar presente. El exceso de conjugado enzimático es lavado para luego agregar el sustrato. La microplaca es incubada a efectos de permitir la hidrólisis del sustrato por la enzima. La intensidad de color generada es proporcional a la cantidad de anticuerpo IgG específico en la muestra.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropozos recubiertos antígeno VZV	12x8x1
2. Diluyente de la muestra: 1 Frasco (listo para usar)	22 ml
3. Calibrador: 1 Vial (listo para usar)	1 ml
4. Control Positivo: 1 Vial (listo para usar)	1 ml
5. Control Negativo: 1 Vial (listo para usar)	1 ml
6. Conjugado Enzimático: 1 Frasco (listo para usar)	12 ml
7. Sustrato TMB: 1 Frasco (listo para usar)	12 ml
8. Solución de Frenado: 1 Frasco (listo para usar)	12 ml
9. Concentrado de Lavado 20X: 1 Frasco	25 ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector de micro ELISA con lente a 450 nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadriculado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
3. Los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre que las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Materiales con potencial riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984:
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de este puede dar datos no válidos.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8°C) por siete días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20°C hasta seis meses. Evite múltiples ciclos de congelación - descongelación.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Prepare 1X de solución de trabajo a 1:20 con el diluyente de ensayo. Conserve a temperatura ambiente (18-26°C).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, todas las muestras y reactivos deben ser llevados a temperatura ambiente (18-26°C). Mezcle gentilmente todos los reactivos previos a su uso.

1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los pozos no utilizados y refrigérelas a 2-8°C.
2. Los controles (positivo y negativo) y el calibrador están listos para su uso. Prepare una dilución de las muestras de 1:21, agregando 10 µl de la muestra a 200 µl del diluyente. Mezclar bien.
3. Dispense 100 µl del suero diluido, calibrador y controles en los pozos designados. Para el reactivo blanco, dispense 100 µl de diluyente de la muestra en la posición 1A. Golpee el pozo para remover las burbujas de aire del líquido y mezcle bien. Incubar por 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Retire el líquido de los pozos. Lave en tres tiempos con 300 µl de solución de lavado a 1x. Golpee los pozos sobre una toalla o papel absorbente.
5. Dispense 100 µl de conjugado enzimático en cada pozo e incube por 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire el conjugado enzimático de los pozos. Lave en tres tiempos con 300 µl de solución de lavado a 1x. Golpee los pozos sobre una toalla o papel absorbente.
7. Dispense 100 µl de sustrato TMB e incube por 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Agregue 100 µl de solución de frenado.
9. Lea la densidad óptica a 450 nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Chequear el Factor de Calibración (CF) valorado en el frasco del Calibrador. Este valor puede variar de lote a lote.
2. Calcule el valor del punto de corte. Calibrador (OD) por Factor de Calibración.
3. Calcule el anticuerpo (Ab) para cada determinación, dividiendo el valor (OD) de cada muestra entre el valor del punto de corte.

EJEMPLO DE LA MUESTRA TÍPICA

Media del Calibrador O.D.	0.8
Factor de Calibración (CF)	0.5
Valor Punto de Corte	0.4
Control Positivo O.D.	1.2
Anticuerpo Índice	3.0
Muestra del Paciente O.D.	1.6
Anticuerpo Índice	4.0

CONTROL DE CALIDAD

Esta prueba puede considerarse válida siempre que se siga el siguiente criterio metodológico:

1. El OD. Del calibrador debe ser mayor que 0.250.
2. El Anticuerpo Índice para control negativo debe ser menor que 0.9.
3. El Anticuerpo Índice para control positivo debe ser menor que 1.2.

INTERPRETACIÓN

Lo siguiente es una guía para la interpretación de resultados de VZV IgM; cada laboratorio deberá establecer su criterio para interpretación basado en sus muestras.

INTERPRETACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ÍNDICES

<0.9 Anticuerpo no detectado de VZV IgG por ELISA

0.9-1.1 Sobre el límite positivo se recomienda otra identificación clínica.

>1.1 Anticuerpo detectado de VZV IgG por ELISA

PERFORMANCE

1. Sensibilidad y Especificidad:

98 Pacientes fueron analizados utilizando el presente kit ELISA y un kit ELISA de referencia. 11 sueros resultaron positivos y 84 resultaron negativos por ambos métodos. Las coincidencias entre ambos fueron del 97%. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

	VZV IgG ELISA		
	+	-	Total
Kit de Referencia ELISA	11	2	13
-	1	84	85
Total	12	86	98

2. Precisión:

Estudio Intra Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media	Desvío Estandar	Coefficiente de Variación %
1	16	1.56	0.085	5.44
2	16	0.72	0.051	7.08
3	16	0.18	0.016	8.88

Estudio Inter Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media	Desvío Estandar	Coefficiente de Variación %
1	10	1.75	0.142	8.11
2	10	0.83	0.076	9.15
3	10	0.22	0.023	10.45

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados obtenidos mediante la utilización de este kit sirven solo como ayuda en el diagnóstico y deben ser interpretados en relación a la historia clínica del paciente, síntomas y otros procedimientos de diagnóstico.
2. Las muestras hemolizadas o lipémicas pueden causar resultados erróneos.

REFERENCIAS

1. Weinberg A, Hayward AR, Masters HB, Obu IA, Levin MJ. Comparison of two methods for detecting varicella-zoster, virus antibody with varicella-zoster cell-mediated immunity. J Clin Microbiol 1996; 34:445-6.
2. Unadkat P, Newman B, Tedder RS. The detection of varicella zoster antibodies by simultaneous competitive EIA and its comparison with radioimmunoassay, latex agglutination and antiglobulin type EIA. J Virol Methods 1995; 51:145-52.
3. Junker AK, Tilley P. Varicella-zoster virus antibody avidity and IgG-subclass patterns in children with recurrent chickenpox. J Med Virol 1994; 43:119-24.
4. Balfour HH Jr, Edelman CK, Dirksen CL, et al. Laboratory studies of acute varicella and varicella immune status. Diagn Microbiol Infect Dis 1988; 10:149-58.
5. Cohen PR. Tests for detecting herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections. Dermatol Clin 1994; 12:51-68.
6. Ghodrathnama F; Wray D; Bagg J Detection of serum antibodies against cytomegalovirus, varicella zoster virus and human herpesvirus 6 in patients with recurrent aphthous stomatitis. J Oral Pathol Med 1999; 28(1): 12-5.
7. Gil A; Gonzalez A; Dal-R'e R; Ortega P; Dominguez V. Prevalence of antibodies against varicella zoster, herpes simplex (types 1 and 2), hepatitis B and hepatitis A viruses among Spanish adolescents. J Infect 1988; 36(1):53-6