AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUAL
DE INSTRUCCIONES

AESKULISA® Cytomegalovirus IgG / IgM
AESKULISA® Cytomegalovirus gB IgG
Ref 6032 / 6033 / 6035

CE 2797 | Σ 96 | 2°C 8°C | IVD

Actualizaciones	
Versión actual	V.005 del 19/11/2024
Versión anterior	V.004 del 07/04/2021
Modificaciones en el capítulo	Dirección, Capítulo 13
Motivo de las modificaciones	Implantación de UDI, actualización de la dirección, adición del capítulo 13

Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Phone: +49 6734 9622-0
Fax: +49 6734 9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

Índice

1 Finalidad prevista 1
2 Relevancia para el diagnóstico 1
3 Principio del ensayo *AESKULISA*® 2
4 Antígenos 2
5 Componentes de *AESKULISA*® 2
6 Materiales necesarios adicionales 3
7 Almacenaje y caducidad 3
8 Ejecución de *AESKULISA*® 4
8.1 Indicaciones generales 4
8.2 Preparación de los reactivos 4
8.2.1 Tiras de microtitulación (listas para el uso) 4
8.2.2 Calibradores (listos para el uso) 4
8.2.3 Controles (listos para el uso) 5
8.2.4 Tampón de dilución de muestras (5x conc.) 5
8.2.5 Solución de lavado (50x conc.) 5
8.2.6 Conjugado de POD anti IgA, IgG o IgM humanos (listo para el uso) 5
8.2.7 Sustrato (listo para el uso) 5
8.2.8 Solución de parada (lista para el uso) 5
8.3 Preparación de muestras 5
8.3.1 Material de las muestras 5
8.3.2 Dilución de muestras 5
8.3.3 Absorción de factor reumatoide con *AESKULISA*® IgM 5
8.3.4 Conservación de las muestras 6
8.4 Ejecución 6
8.4.1 Esquema de pipeteo 6
8.4.2 Curso del ensayo 7
8.5 Ejecución en el uso automático 8
9 Valoración de *AESKULISA*® 8
9.1 Estandarización 8
9.2 Valoración cuantitativa 8
9.3 Rango límite 9
9.4 Rangos de medición 9
9.5 Valoración cualitativa 9
9.6 Criterios de validez 9
9.7 Interpretación de los resultados 10
10 Características de rendimiento de *AESKULISA*® 11
10.1 Sensibilidad y especificidad analíticas 11
10.2 Sensibilidad y especificidad de diagnóstico 11
10.3 Valores previstos 12
10.4 Precisión 12
11 Indicaciones de seguridad 13
11.1 Advertencias y precauciones 13
11.2 Eliminación 14
12 Referencias bibliográficas 15
13 Símbolos reglamentarios 17

1 Finalidad prevista

AESKULISA® Citomegalovirus IgG e IgM son inmunoensayos cualitativos y cuantitativos para detectar anticuerpos IgG e IgM contra citomegalovirus en suero o plasma humano. *AESKULISA*® Citomegalovirus IgM se utiliza como prueba inicial para detectar infecciones agudas. *AESKULISA*® Citomegalovirus IgG permite confirmar el contacto con un agente patógeno y ayuda a determinar el estado inmunitario.

AESKULISA® Citomegalovirus gB IgG es un inmunoensayo cualitativo y cuantitativo para detectar humanos en suero o plasma anticuerpos IgG humanos contra la glucoproteína B (gB) del CMV.

La interpretación de los resultados solo puede efectuarse en relación con el cuadro clínico. El diagnóstico no debe basarse exclusivamente en los resultados del ensayo realizado; deberá emitirse siempre teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y analíticos. Deberán efectuarse análisis adicionales para la confirmación. Los inmunoensayos *AESKULISA*® se han diseñado solo para uso en procedimientos de diagnóstico *in vitro* y deben ser utilizados exclusivamente por personal cualificado, con la formación y asesoramiento adecuados y familiarizados con los métodos de laboratorio.

2 Relevancia para el diagnóstico

Los citomegalovirus humanos (CMV) son virus patógenos humanos de la familia *Herpesviridae* que también se conocen como virus del herpes humano 5 (VHH 5) y que están distribuidos por todo el mundo. Los patógenos de la citomegalia tienen 200 nm de tamaño y una cápside icosaédrica que rodea el genoma de ADNdc, compuesto por aproximadamente 230.000 pb y encerrado por una membrana lipídica que engloba diferentes glucoproteínas. Los citomegalovirus se caracterizan por un ciclo de replicación notablemente lento. Las células infectadas suelen aumentar mucho de tamaño.

Los citomegalovirus humanos se transmiten principalmente por contacto con secreciones corporales (p. ej., saliva, lágrimas, orina o semen), a través del contacto con tejidos mucosos, transfusiones de sangre, trasplantes de órganos y por vía transplacentaria e intrauterina. La seroprevalencia muestra una clara relación de dependencia con el nivel de vida socioeconómico y se sitúa entre el 40 y el 60 % en Europa. Las infecciones primarias suelen ser asintomáticas en personas inmunocompetentes y sanas. En caso de infección, tras un período de incubación de dos a seis semanas pueden aparecer síntomas similares a los de la gripe, con fiebre, dolor de cabeza, dolor articular e inflamación de los ganglios linfáticos. Complicaciones como miocarditis, trombocitopenia o polineuritis son raras en personas inmunocompetentes. Como ocurre con todos los virus del herpes, la infección primaria conduce a la permanencia de por vida del patógeno.

En personas con inmunodeficiencias congénitas o adquiridas o bajo terapia inmunosupresora, la infección por CMV puede ocasionar complicaciones graves, como colitis, hepatitis, neumonía o encefalitis. En pacientes con trasplantes existe riesgo de alteración de la funcionalidad o incluso de pérdida del trasplante en caso de infección o reactivación del CMV.

Una infección primaria por CMV durante el embarazo es especialmente peligrosa, pues en caso de transmisión del patógeno a través de la placenta, puede provocar una infección congénita con daños considerables e incluso la muerte del feto. El riesgo de infección del feto y la gravedad de los trastornos varían en función de la etapa de desarrollo en que se produzca la infección. Las infecciones congénitas por CMV pueden provocar trastornos del crecimiento, déficits motores, microcefalia, trastornos neurológicos con retraso mental y especialmente afectación auditiva que puede llegar a sordera. También pueden darse hepatoesplenomegalia, ictericia, petequias,

calcificaciones intracerebrales y coriorretinitis. La infección por CMV es la infección congénita más común.

Para el diagnóstico de una infección por citomegalovirus existen métodos de detección tanto directos como indirectos. En los diagnósticos rutinarios, las infecciones por citomegalovirus se confirman indirectamente mediante la detección serológica de anticuerpos IgG e IgM específicos del CMV.

3 Principio del ensayo *AESKULISA*®

AESKULISA® (AESKU *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) es un procedimiento inmunológico acreditado especialmente para la detección de anticuerpos. La reacción de detección se basa en la interacción específica de anticuerpos y antígenos. Con esta finalidad, las tiras de ensayo de las placas de microtitulación de *AESKULISA*® están recubiertas con antígenos específicos de agentes patógenos infecciosos para la unión con los anticuerpos presentes en la muestra del paciente. Otros anticuerpos secundarios marcados con peroxidasa detectan los inmunocomplejos que se forman de este modo. La enzima cataliza una reacción en la que un sustrato incoloro se transforma en un producto de color. La potencia de señal del producto de la reacción es proporcional a la actividad de anticuerpos en la muestra y se detecta mediante fotometría.

4 Antígenos

La detección de anticuerpos con *AESKULISA*® Citomegalovirus IgG e IgM se basa en el uso de citomegalovirus inactivados (cepa AD_169). La detección de anticuerpos con *AESKULISA*® Citomegalovirus gB IgG se basa en el uso de una proteína de fusión recombinante formada por dominios AD2 inmunogénicos de las glucoproteínas B (gB) de los citomegalovirus.

5 Componentes de *AESKULISA*®

Componentes del ensayo	Color de la solución	Color de la tapa	Número/ volumen
Tiras de microtitulación divisibles MP cada una con ocho cavidades individuales recubiertas (en total 96), 1 marco de ensayo. El material de recubrimiento específico para el ensayo está desactivado.	-	-	12 unidades
Calibradores A-D CAL (listos para el uso) Suero humano o anticuerpos quiméricos en una solución proteica (BSA); teñido; conservante ProClin. Las actividades de los anticuerpos de los calibradores se indican en sus etiquetas y en el certificado de control de calidad de *AESKULISA*®.	amarillo*	blanco	4 x 1,5 ml
Control positivo CON + (listo para el uso) Suero humano o anticuerpos quiméricos en una solución proteica (BSA); teñido; conservante ProClin.	amarillo*	rojo	1 x 1,5 ml
Control negativo CON – (listo para el uso) Suero humano o anticuerpos quiméricos en una solución proteica (BSA); teñido; conservante ProClin.	amarillo*	verde	1 x 1,5 ml

Tampón de dilución de muestras SB 5x **, 5x conc.** Solución proteica (BSA); teñida; conservante < 0,1 % azida de sodio. El tampón de muestra para los inmunoensayos *AESKULISA*® IgM contiene absorbente de Rf.	IgG, IgA: amarillo IgM: verde	blanco	1 x 20 ml
Tampón de lavado WASHB 50x **, 50x conc.** Solución con Tween 20; teñida; conservante ProClin.	verde	blanco	1 x 20 ml
Conjugado anti IgA, IgG o IgM humanos CONJ (listo para el uso) Anticuerpos policlonales dirigidos contra IgA, IgG o IgM humanos conjugados con peroxidasa de rábano, estabilizados en una solución proteica (BSA); teñidos; conservante ProClin.	IgA: rojo IgG: azul IgM: verde	IgA: rojo IgG: azul IgM: verde	1 x 15 ml
Sustrato SUB (listo para el uso) TMB/H_2O_2 estabilizado	incoloro	negro	1 x 15 ml
Solución de parada STOP (lista para el uso) 1 M de ácido clorhídrico (HCl)	incoloro	blanco	1 x 15 ml
Certificado de control de calidad	-	-	1 unidades
Instrucciones de uso	-	-	1 unidades

* La intensidad del color aumenta con la actividad de los anticuerpos.

6 Materiales necesarios adicionales

- Equipo de laboratorio habitual con material de vidrio (cilindros 100-1000 ml), probetas para diluciones, agitador tipo vórtex, micropipetas (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o multipipeta ajustable (100-1000 µl)
- Fotómetro espectral para placas de microtitulación con filtro, longitud de onda de 450 nm, longitud de onda de referencia recomendada en un rango de 600-690 nm (por ejemplo, 620 nm)
- Mecanismo de lavado para placas de microtitulación
  (multipipeta 300 µl, pipeta de canales múltiples o sistema de lavado automático)
- Papel de filtro
- Agua destilada
  Nuestros inmunoensayos *AESKULISA*® se han desarrollado para el uso con agua purificada (*purified water*) según la definición de la Farmacopea de Estados Unidos (USP 26-NF 21) y de la Farmacopea Europea (Eur. Ph. 4.ª ed.).

7 Almacenaje y caducidad

Las tiras de microtitulación siempre deben conservarse cerradas en la lámina de embalaje con la bolsa antihumedad. Con un almacenamiento adecuado en los envases originales y a temperaturas de 2-8 °C/35,6-46,4 °F, los reactivos y las placas de microtitulación también se conservan hasta la fecha de caducidad indicada una vez abiertos. Las soluciones diluidas pueden conservarse durante cuatro semanas a 2-8 °C/35,6-46,4 °F.

8 Ejecución de *AESKULISA*®

8.1 Indicaciones generales

El cumplimiento preciso de las instrucciones de uso garantiza unos resultados de ensayo correctos. Para el uso adecuado de los inmunoensayos *AESKULISA*® solo deben utilizarse los reactivos *AESKULISA*®. Estos no deben intercambiarse por reactivos de otros fabricantes.

Las placas de microtitulación, los calibradores, los controles y los conjugados de los inmunoensayos *AESKULISA*® se utilizan dentro de un ensayo o lote específicos y no se pueden utilizar en otros lotes. Las valoraciones de los calibradores y los controles se indican en el certificado de control de calidad de los inmunoensayos *AESKULISA*®. La solución de lavado, la solución de sustrato y la solución de parada pueden combinarse con todos los inmunoensayos *AESKULISA*® independientemente del ensayo y el lote.

El tampón de dilución de muestras de los inmunoensayos *AESKULISA*® IgA e IgG puede utilizarse con todos los inmunoensayos *AESKULISA*® IgA e IgG (REF 6xxx) independientemente del ensayo y el lote. El tampón de dilución de muestras de los inmunoensayos *AESKULISA*® IgM contiene absorbente de Rf y puede utilizarse con todos los inmunoensayos *AESKULISA*® IgM para la serología infecciosa (REF 6xxx) independientemente del ensayo y el lote.

Para evitar la contaminación, siempre deben utilizarse técnicas asépticas para la extracción de los reactivos. Las soluciones de conjugado y sustrato no deben pipetearse nunca con una punta contaminada con otros reactivos. La reproducibilidad de los resultados depende, entre otros, de la homogeneización exhaustiva de los reactivos. Por este motivo, las diluciones de reactivos y muestras deben mezclarse bien antes del uso. Una dilución inadecuada puede producir una pérdida de la sensibilidad de detección.

Asimismo, debe utilizarse una técnica de pipeteado precisa y deben respetarse los tiempos y temperaturas de incubación indicados. Un lavado correcto evita las inespecificidades del ensayo.

Durante el almacenaje y la incubación, los reactivos deben protegerse de fuentes de luz intensa. Nunca deben exponerse a temperaturas superiores a 37 °C/98,6 °F. Después del uso, los reactivos deben volver a cerrarse bien para evitar que se sequen o se contaminen. Al cerrar los frascos debe tenerse la precaución de no confundir las tapas.

Los inmunoensayos *AESKULISA*® solo pueden evaluarse si se cumplen los criterios de validez.

8.2 Preparación de los reactivos

Antes de iniciar el ensayo, todos los componentes y la placa de microtitulación deben alcanzar la temperatura ambiente (20-25 °C/68-77 °F). Los reactivos líquidos deben mezclarse bien. Para la dilución del concentrado de tampón solo deben utilizarse frascos de vidrio limpios.

8.2.1 Tiras de microtitulación (listas para el uso)

Las tiras de microtitulación incluyen una abreviatura del antígeno con el que están recubiertas.

8.2.2 Calibradores (listos para el uso)

Los calibradores CAL A–CAL D están listos para el uso y no deben diluirse. En cada ejecución del ensayo, independientemente del número de tiras de ensayo utilizadas, deben incluirse calibradores.

8.2.3 Controles (listos para el uso)

Los controles positivos CON+ y los controles negativos CON– están listos para el uso y no deben diluirse. En cada ejecución del ensayo, independientemente del número de tiras de ensayo utilizadas, deben incluirse controles.

En función de las reglamentaciones nacionales, los laboratorios también pueden validar y utilizar otros controles propios.

8.2.4 Tampón de dilución de muestras (5x conc.)

El tampón de muestra concentrado debe diluirse con agua destilada en una proporción de 1:5 (por ejemplo, 20 ml + 80 ml) antes del uso. El tampón de muestra de los inmunoensayos *AESKULISA*® IgM contiene absorbente de Rf.

8.2.5 Solución de lavado (50x conc.)

La solución de lavado concentrada debe diluirse con agua destilada en una proporción de 1:50 (por ejemplo, 20 ml + 980 ml) antes del uso.

8.2.6 Conjugado de POD anti IgA, IgG o IgM humanos (listo para el uso)

El conjugado está listo para el uso.

8.2.7 Sustrato (listo para el uso)

El sustrato TMB debe pipetearse siempre con pipetas a estrenar para evitar las contaminaciones. No exponer la solución de sustrato a fuentes de luz intensas.

8.2.8 Solución de parada (lista para el uso)

La solución de parada está lista para el uso.

8.3 Preparación de muestras

8.3.1 Material de las muestras

Se recomienda utilizar muestras de plasma EDTA o de suero frescas. No deben utilizarse muestras ictéricas, lipémicas, hemolíticas o con contaminación bacteriana. Determinadas muestras deben centrifugarse (< 1000 x g) y debe retirarse el sobrenadante para un uso posterior. Las muestras no deben desactivarse térmicamente.

8.3.2 Dilución de muestras

Las muestras de pacientes deben diluirse en una proporción de 1:101 (por ejemplo, 10 µl + 1000 µl) con 1x de tampón de muestra y mezclarse bien.

8.3.3 Absorción de factor reumatoide con *AESKULISA*® IgM

Los factores reumatoides (Rf) son principalmente anticuerpos de clase IgM que se unen preferiblemente a complejos inmunitarios de IgG. La detección de anticuerpos IgM específica para el agente patógeno puede arrojar resultados positivos falsos debido a estos factores reumatoides. Además, los anticuerpos IgM específicos para el agente patógeno y de unión más débil pueden

ser sustituidos por anticuerpos IgG de unión más fuerte. Por ello, la detección de IgM puede resultar en un falso negativo. Por este motivo, el tampón de muestra de los inmunoensayos *AESKULISA*® IgM contiene un absorbente de Rf especial. La absorción de Rf se efectúa mediante la dilución de la muestra del paciente en 1x tampón de muestra de los inmunoensayos *AESKULISA*® IgM y la incubación posterior durante al menos 15 minutos a temperatura ambiente.

8.3.4 Conservación de las muestras

Las muestras de los pacientes deben utilizarse en un plazo de 8 horas y no conservarse durante más de 48 horas a una temperatura de 2-8 °C/35,6-46,4 °F. Es posible conservar las muestras durante más tiempo a una temperatura de ≤ -20 °C/-4 °F. Debe evitarse congelar y descongelar las muestras más de una vez.

8.4 Ejecución

8.4.1 Esquema de pipeteo

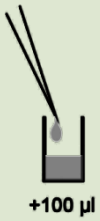
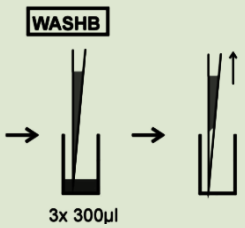
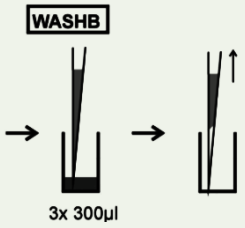
En función del uso cuantitativo o cualitativo previsto de los inmunoensayos *AESKULISA*® se recomienda el esquema de pipeteo siguiente:

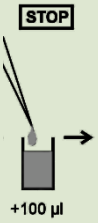
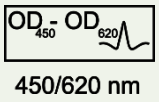
	Uso cuantitativo						Uso cualitativo				
	1	2	3	4			1	2	3	4	
A	CAL A	P3				A	CON–	P5			
B	CAL B	P4				B	CAL B	P6			
C	CAL C	P5				C	CAL B	…			
D	CAL D	P6				D	CON+				
E	CON–	…				E	P1				
F	CON+					F	P2				
G	P1					G	P3				
H	P2					H	P4				

	CAL A	Calibrador A		CON–	Controles negativos
	CAL B	Calibrador B		CAL B	Controles de corte
	CAL C	Calibrador C		CON+	Controles positivos
	CAL D	Calibrador D			
	CON–	Controles negativos			
	CON+	Controles positivos			

8.4.2 Curso del ensayo

El número necesario de cavidades debe establecerse en el marco del ensayo e indicarse en la hoja de protocolo.
Para el procesamiento manual se recomienda el uso a temperatura ambiente.

Paso de trabajo	Símbolo	Descripción
1. Adición de calibradores, controles y muestras diluidas		Adición de 100 µl respectivamente de calibradores, controles y muestras diluidas listos para el uso por cavidad.
2. Incubación de muestras		Incubación durante 30 +/- 3 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F.
3. 3 x lavados		Aspirar el líquido de las cavidades; llenar cada cavidad con 300 µl de solución de lavado una vez, aspirar la solución de lavado y repetir el procedimiento 2 veces más; golpear suavemente la placa.
4. Adición de conjugado		Adición de 100 µl de solución de conjugado lista para usar por cavidad.
5. Incubación del conjugado		Incubación durante 30 +/- 3 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F.
6. 3 x lavados		Aspirar el líquido de las cavidades; llenar cada cavidad con 300 µl de solución de lavado una vez, aspirar la solución de lavado y repetir el procedimiento 2 veces más; golpear suavemente la placa.
7. Adición de sustrato		Adición de 100 µl de solución de sustrato lista para usar por cavidad.

8. Incubación del sustrato		Incubación durante 30 +/- 3 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F, mantener alejado de las fuentes de luz intensa.
9. Adición de solución de parada		Adición de 100 µl de solución de parada lista para usar por cavidad en el orden de adición del sustrato.
10. Incubación		Opcional: incubación durante 5 minutos.
11. Mezcla		Agitar la placa con precaución durante 5 segundos.
12. Análisis		Medir la densidad óptica en un plazo de 30 minutos a 450 nm en relación con una longitud de onda de referencia recomendada de 620 nm.

8.5 Ejecución en el uso automático

El procesamiento automático de los inmunoensayos *AESKULISA*® se efectúa de forma análoga al manual. Debe seguirse el curso de ensayo indicado. Los inmunoensayos *AESKULISA*® se evalúan en cuanto al uso con diferentes instrumentos. Los archivos del ensayo correspondientes están disponibles previa solicitud. Para el procesamiento automático de los inmunoensayos *AESKULISA*® en otros dispositivos se recomienda la evaluación de los archivos de ensayo por parte del proveedor del kit de ensayo en colaboración con el proveedor del instrumento. El usuario debe validar posteriormente el procesamiento automático correcto de los inmunoensayos *AESKULISA*®.

9 Valoración de *AESKULISA*®

9.1 Estandarización

La calibración de los test *AESKULISA*® Citomegalovirus IgG e IgM y del *AESKULISA*® Citomegalovirus gB IgG se realizó con sueros de referencia internos. Los resultados cuantitativos se expresan en U/ml.

9.2 Valoración cuantitativa

Fundamentalmente se recomienda la valoración cuantitativa de los inmunoensayos *AESKULISA*®. Para generar la curva estándar se aplican las señales de medición ópticas (densidad óptica, DO) de los calibradores respecto a su actividad de anticuerpos (en UI/ml o U/ml). Las actividades de los anticuerpos de los calibradores se indican en el certificado de control de calidad específico del lote de *AESKULISA*®. Se recomiendan una representación log/lin y un ajuste logístico de 4 parámetros (4 PL) para la valoración. Mediante la curva generada, a partir de las señales de medición ópticas de las muestras se obtiene la actividad de anticuerpos correspondiente.

9.3 Rango límite

El rango límite de los inmunoensayos *AESKULISA*® se indica en el certificado de control de calidad y señaliza el rango de resultados límite de medición. La valoración de una muestra del paciente por debajo del rango límite establece un resultado de ensayo negativo; la valoración de una muestra del paciente por encima del rango límite se interpreta como un resultado de ensayo positivo. Debido a las diferentes prevalencias séricas y programas de vacunación en cada país, se recomienda verificar y adaptar, si corresponde, el rango límite mediante análisis propios.

9.4 Rangos de medición

El rango de medición de los inmunoensayos *AESKULISA*® se indica en el certificado de control de calidad. En el marco de los estudios de valoración del rendimiento se demostró la linealidad de la dilución de las muestras, así como una elevada precisión y reproducibilidad de los resultados de medición en este rango. Las muestras que arrojan resultados por encima del rango de medición deben valorarse como > máx. Las muestras que arrojan resultados por debajo del rango de medición deben valorarse como < mín. Si las muestras de los pacientes alcanzan valores de medición por encima del rango de medición, pueden volverse a analizar con una mayor dilución. Para la cuantificación deben multiplicarse las actividades de los anticuerpos obtenidas por el factor de dilución adicional.

9.5 Valoración cualitativa

La valoración cualitativa con los inmunoensayos *AESKULISA*® se realiza mediante la comparación de la densidad óptica (DO) de la muestra del paciente con la densidad óptica media del calibrador B aplicado doblemente (calibrador de corte CAL B). Si la densidad óptica de la muestra del paciente se sitúa en un rango de +/- 20 % del promedio de densidad óptica del calibrador de corte CAL B, esta se considerará como límite. En caso de que la DO sea más elevada, la muestra del paciente se considerará positiva, y en caso de que la DO sea más baja, se considerará negativa.

9.6 Criterios de validez

Para que un ensayo sea válido deben cumplirse los criterios de validez siguientes:

- DO CAL A < 0,3
- DO CAL A < DO CAL B < DO CAL C < DO CAL D
- DO CAL D > 1,3
- Los controles negativos deben valorarse de forma negativa.
- Los controles positivos no deben valorarse de forma negativa.
- Para el uso cuantitativo de los inmunoensayos *AESKULISA*® los controles positivos deben encontrarse en el período de validez que está indicado en el certificado de control de calidad específico del lote de *AESKULISA*®.
- Para el uso cualitativo de los inmunoensayos *AESKULISA*® los valores de DO del calibrador de corte B (CAL B) aplicado doblemente no deben diferir entre sí en más de un 20 %.

En caso de que estos criterios no se cumplan, el ensayo no será válido y deberá repetirse.

En caso de que un ensayo no sea válido, deberán revisarse la caducidad de los reactivos (listos para usar), las condiciones de almacenamiento, los tiempos y temperaturas de incubación, las pipetas, el módulo de lavado, incl. los ciclos de lavado, el fotómetro y otros dispositivos utilizados. En caso de que no exista un motivo para la invalidez del ensayo o para otros resultados divergentes, póngase en contacto con el proveedor o fabricante del kit de ensayo.

9.7 Interpretación de los resultados

Un resultado positivo en el inmunoensayo *AESKULISA*® confirma la presencia de anticuerpos específicos. Un resultado negativo indica que la muestra del paciente no presenta actividad clínicamente relevante de anticuerpos contra el agente patógeno, pero no excluye la infección reciente. Los resultados en el límite de detección no permiten evaluar con seguridad la muestra del paciente. En ese caso, el ensayo debe repetirse en paralelo con una nueva muestra sérica (muestras de suero pareadas) tomada al cabo de una a dos semanas.

Una infección primaria por CMV va acompañada normalmente de la formación de anticuerpos IgM e IgG y de una seroconversión. La actividad de IgG responsable de la protección inmunitaria suele mantenerse durante toda la vida. Después de una infección, la actividad de los anticuerpos IgM suele disminuir, aunque puede persistir durante varios meses. Por ejemplo, los diagnósticos positivos de IgM pueden deberse a IgM persistentes durante un período de tiempo más largo, reactivaciones de CMV, estimulación policlonal previa o reacciones cruzadas con anticuerpos contra otros virus, además de factores reumatoides. Por tanto, la detección serológica de anticuerpos IgM contra citomegalovirus por si sola no prueba una infección aguda por citomegalovirus. En consecuencia, un resultado positivo de IgM siempre debe confirmarse mediante pruebas adicionales como la PCR, la determinación de la avidez o la detección de anticuerpos IgG contra la glucoproteína B del CMV (gB AD2).

En las infecciones primarias por CMV se observa una formación retardada de anticuerpos IgG contra la glucoproteína B (gB) del CMV. Por el contrario, los anticuerpos IgG contra gB a menudo son detectables inmediatamente en infecciones recurrentes por CMV. La falta de anticuerpos IgG contra gB AD2 puede ser, por tanto, un indicador para la identificación de mujeres embarazadas con riesgo elevado de transmisión transplacentaria del CMV, si bien hay que tener en cuenta que aproximadamente el 20 % de todas las personas infectadas por CMV no desarrollan anticuerpos IgG contra gB.

No se pueden excluir las reacciones cruzadas de anticuerpos contra otros virus del herpes (p. ej., VHS, EBV o VZV).

Esquema de interpretación básico de los resultados serológicos

CMV Actividad de IgM	CMV Actividad de IgG	CMV gB Actividad de IgG	Evaluación
negativa	negativa	negativa	No se ha detectado ningún anticuerpo específico. En caso de sospecha fundada, se recomienda realizar un nuevo ensayo al cabo de una o dos semanas.
positiva	negativa/positiva	negativa	Señal de infección aguda por CMV. Se recomienda realizar análisis adicionales para la confirmación.
negativa	positiva	positiva	Señal de infección superada/latencia de CMV.

La interpretación de los resultados solo puede efectuarse en relación con el cuadro clínico. El diagnóstico no debe basarse exclusivamente en los resultados del ensayo realizado; deberá emitirse siempre teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y analíticos. Deberán efectuarse análisis adicionales para la confirmación.

10 Características de rendimiento de *AESKULISA*®

10.1 Sensibilidad y especificidad analíticas

El Límite de blanco (LdB) se evaluó mediante análisis múltiple de pocillos que solo contenían tampón de muestra. El límite de detección (LdD) se evaluó mediante un análisis múltiple de muestras negativas.

	Límite de blanco (LdB)	Límite de detección (LdD)
AESKULISA® Cytomegalovirus IgG	0,09 U/ml	1,73 U/ml
AESKULISA® Cytomegalovirus IgM	0,11 U/ml	0,64 U/ml
AESKULISA® Cytomegalovirus (gB) IgG	0,69 U/ml	2,50 U/ml

La especificidad analítica de los inmunoensayos *AESKULISA*® se analizó mediante la adición de sustancias potencialmente interferentes en las muestras y la determinación de su influencia en los resultados de medición. No se pudo determinar una influencia significativa de la hemoglobina (hasta 800 mg/dl), la bilirrubina (hasta 20 mg/dl), el conjugado de bilirrubina (hasta 20 mg/dl) y los triglicéridos (hasta 3000 mg/dl) en los resultados de medición.

10.2 Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

Para calcular la sensibilidad y especificidad de los inmunoensayos del *AESKULISA*® Citomegalovirus IgG e IgM se analizaron, respectivamente, 180 sueros de donantes de sangre y personas con sospecha de infección por citomegalovirus. Los resultados se compararon con los de los inmunoensayos de citomegalovirus IgG e IgM de un competidor líder europeo.

Para calcular la especificidad del inmunoensayo *AESKULISA*® Citomegalovirus gB IgG, se examinaron 100 muestras de suero de CMV de madres seronegativas con síntomas clínicos normales en el momento del nacimiento de sus hijos. Los resultados se compararon con los del inmunoensayo de citomegalovirus IgG de un competidor líder europeo.

La sensibilidad del inmunoensayo *AESKULISA*® Citomegalovirus gB IgG se determinó analizando 101 muestras de suero de mujeres embarazadas con infección latente de CMV, en las que se observó una reacción positiva al antígeno gB2 en la inmunotransferencia de un fabricante líder europeo. En este análisis no se tuvieron en cuenta los sueros con señal aislada contra gB1 y una señal negativa contra gB2.

	Sensibilidad	Especificidad
AESKULISA® Cytomegalovirus IgG	97,8 %	97,7 %
AESKULISA® Cytomegalovirus IgM	>99 %	98,1 %
AESKULISA® Cytomegalovirus (gB) IgG	>99 %	93,6 %

Para el cálculo de la sensibilidad y la especificidad no se tuvieron en cuenta los resultados en el límite de detección.

10.3 Valores previstos

El análisis de sueros de donantes de sangre no seleccionados con *AESKULISA*® Cytomegalovirus IgG e IgM y con *AESKULISA*® Cytomegalovirus gB IgG dio como resultado la siguiente distribución:

AESKULISA®	Número de muestras	negativa	límite	positiva
Cytomegalovirus IgG	100	30 (30,0 %)	0 (0,0 %)	70 (70,0 %)
Cytomegalovirus IgM	100	96 (96,0 %)	3 (3,0 %)	1 (1,0 %)
Cytomegalovirus gB IgG	100	46 (46,0 %)	3 (3,0 %)	51 (51,0 %)

10.4 Precisión

Para el cálculo de la precisión y la reproducibilidad de los resultados de medición con *AESKULISA*® Cytomegalovirus IgG e IgM y con *AESKULISA*® Cytomegalovirus gB IgG, se determinaron la varianza intraensayo e interensayo, así como entre lotes, con varias muestras con diferente actividad de anticuerpos.

AESKULISA® Cytomegalovirus IgG

Muestra	Extinción (DO)	Actividad de IgG	Intraensayo CV (U/ml)	Interensayo CV (U/ml)	Entre lotes CV (U/ml)
Suero 1	0,259	3,5 U/ml	5,6 %	18,1 %	20,5 %
Suero 2	0,832	19,4 U/ml	5,8 %	14,1 %	10,8 %
Suero 3	1,474	54,0 U/ml	7,2 %	11,6 %	6,6 %
Suero 4	1,688	72,4 U/ml	8,8 %	14,9 %	13,4 %
Suero 5	1,704	73,6 U/ml	6,6 %	10,3 %	7,8 %

AESKULISA® Cytomegalovirus IgM

Muestra	Extinción (DO)	Actividad de IgM	Intraensayo CV (U/ml)	Interensayo CV (U/ml)	Entre lotes CV (U/ml)
Suero 1	0,419	7,0 U/ml	4,5 %	6,8 %	6,6 %
Suero 2	0,882	19,7 U/ml	5,9 %	6,3 %	6,5 %
Suero 3	1,098	27,8 U/ml	4,8 %	5,6 %	9,1 %
Suero 4	1,559	52,6 U/ml	5,4 %	7,7 %	10,3 %
Suero 5	1,627	57,4 U/ml	5,4 %	6,4 %	9,7 %

AESKULISA® Cytomegalovirus gB IgG

Muestra	Extinción (DO)	Actividad de IgG	Intraensayo CV (U/ml)	Interensayo CV (U/ml)	Entre lotes CV (U/ml)
Suero 1	0,322	5,2 U/ml	2,7 %	10,8 %	15,6 %
Suero 2	0,746	17,8 U/ml	3,8 %	7,2 %	9,3 %
Suero 3	1,237	38,5 U/ml	5,7 %	7,4 %	8,5 %
Suero 4	1,592	57,7 U/ml	3,9 %	10,3 %	11,9 %
Suero 5	2,588	138,0 U/ml	3,7 %	14,5 %	14,9 %

A petición, hay disponibles informes más exhaustivos sobre diversas características de rendimiento del estudio, como sensibilidad y especificidad analíticas, veracidad, precisión, exactitud, recuperación, linealidad, límites de detección y rango de medición.

11 Indicaciones de seguridad

11.1 Advertencias y precauciones

Los inmunoensayos *AESKULISA*® están destinados exclusivamente al diagnóstico *in vitro* y al uso por parte de personal especializado que domine las técnicas de trabajo a la perfección. La manipulación de los reactivos de ensayo y las muestras del paciente se rige por las normas reconocidas de buenas prácticas de laboratorio. En caso de que el producto esté dañado o de que la información del producto, incluido el etiquetado, sea errónea o esté incompleta, póngase en contacto con el fabricante o el distribuidor del kit de ensayo.

No pipetear con la boca. En las zonas en las que se trabaja con reactivos de ensayo o muestras de pacientes no se deben ingerir alimentos o bebidas ni fumar. Al manejar reactivos de ensayo y muestras de pacientes debe evitarse el contacto directo mediante el uso de una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección. A continuación, lavarse bien las manos.

El producto contiene diluciones de sueros humanos. Aunque se analizaron todos los sueros utilizados y dieron resultados negativos para anticuerpos anti-VIH 1 y 2, HBsAg (antígeno de superficie del virus de la hepatitis B) y anticuerpos anti-VHC, deben considerarse potencialmente infecciosos. El producto también incluye componentes de origen animal. Respetar las normativas nacionales relativas a la manipulación de estos materiales.

Algunos componentes del kit contienen reactivos potencialmente peligrosos que pueden provocar irritación de los ojos y la piel.

Algunos componentes contienen azida de sodio (NaN_3) como conservante. La azida de sodio puede tener efecto tóxico si se ingiere o se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida de sodio puede formar azidas metálicas altamente explosivas en combinación con tubos de plomo o cobre. Para evitar la concentración de azida, aclarar con agua abundante al desechar estas soluciones.

Los calibradores y controles, así como las muestras de los pacientes, deben considerarse sustancias potencialmente infecciosas y manejarse de conformidad con las directrices nacionales. Las muestras de los pacientes y todos los materiales potencialmente infecciosos deberán descontaminarse después de realizar el ensayo.

Los reactivos deben mantenerse fuera del alcance de los niños.

Cualquier incidente grave producido en relación con el dispositivo se deberá comunicar al fabricante y la autoridad competente del Estado miembro en el que el usuario o el paciente resida.

Hay disponible un resumen de seguridad y rendimiento tanto a través de Eudamed, como a petición.

11.2 Eliminación

Para la descontaminación y eliminación, deben seguirse las recomendaciones de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), así como las disposiciones legales locales y nacionales vigentes correspondientes.

12 Referencias bibliográficas

Enders, G. (2006) Labormedizinische Aspekte bei Zytomegalie und Toxoplasmose. Gynäkologie + Geburtshilfe *1*, 24 – 8.

Hamprecht, K. (2014) Zytomegalie. AWMF-Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschafts-relevanter Virusinfektionen.

Rothe, M. *et al*. (2001) An antigen fragment encompassing the AD2 domains of glycoprotein B from two different strains is sufficient for differentiation of primary vs. recurrent human cytomegalovirus infection by ELISA. J. Med. Virol. *65*, 719 – 29.

Schoppel, K. *et al.* (1997). The humoral immune response against human CMV is characterized by a delayed synthesis of glycoproteinspecific antibodies. J. Inf. Dis. *175*, 533 – 44.

13 Símbolos reglamentarios

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In Vitro Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique Device Identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
	- Rispettare le istruzioni per l'uso	- See instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation	- Ver las instrucciones de uso
	- Gebrauchsanweisung beachten	- Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	- Ver as instrucões de uso	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C / 35,6-46,4 °F	- Store at 2-8°C / 35.6-46.4 °F
	- Conserver à 2-8°C / 35,6-46,4 °F	- Conservar a 2-8°C / 35,6-46,4 °F
	- Lagerung bei 2-8°C / 35,6-46,4 °F	- Φυλάσσεται στους 2-8°C / 35,6-46,4 °F
	- Conservar entre 2-8°C / 35,6-46,4 °F	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
CO-CAL	- Calibratore cut-off	- Cut off Calibrator
	- Etalon Seuil	- Calibrador de cut-off
	- Grenzwert Kalibrator	- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador de cut-off	
CON +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	
CON −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	