AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUAL
DE INSTRUÇÕES

AESKULISA® Herpes Simplex Virus IgG / IgM
Ref 6042 / 6043 / 6045 / 6048



DIN EN ISO 13485

Atualizações	
Versão atual	V.003 de 07/04/2021
Versão anterior	V.002 de 20/01/2020
Alterações no capítulo	1; 10; 11.1
Motivo para as alterações	IVDR Atualização



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com

Índice

1 Finalidade ... 3
2 Importância diagnóstica ... 3
3 Princípio do teste *AESKULISA*® ... 4
4 Antigénio ... 4
5 Componentes do *AESKULISA*® ... 4
6 Materiais adicionalmente necessários ... 5
7 Armazenamento e prazo de validade ... 5
8 Execução do *AESKULISA*® ... 5
8.1 Indicações gerais ... 5
8.2 Preparação de reagentes ... 6
8.2.1 Tiras de microtitulação (prontas a usar) ... 6
8.2.2 Calibradores (prontos a usar) ... 6
8.2.3 Controlos (prontos a usar) ... 6
8.2.4 Diluente de amostra (5x conc.) ... 7
8.2.5 Solução de lavagem (50x conc.) ... 7
8.2.6 Conjugado POD anti-IgA, IgG ou IgM humano (pronto a usar) ... 7
8.2.7 Substrato (pronto a usar) ... 7
8.2.8 Solução de paragem (pronta a usar) ... 7
8.3 Preparação da amostra ... 7
8.3.1 Material de amostra ... 7
8.3.2 Diluição da amostra ... 7
8.3.3 Absorção do fator reumatoide com *AESKULISA*® IgM ... 7
8.3.4 Armazenamento da amostra ... 8
8.4 Execução ... 8
8.4.1 Esquema de pipetagem ... 8
8.4.2 Realização do teste ... 8
8.5 Execução no caso de aplicação automatizada ... 10
8.6 Diagnóstico do liquor ... 10
9 Avaliação *AESKULISA*® ... 10
9.1 Normalização ... 10
9.2 Avaliação quantitativa ... 10
9.3 Área limite ... 10
9.4 Áreas de medição ... 11
9.5 Avaliação qualitativa ... 11
9.6 Critérios de validade ... 11
9.7 Interpretação dos resultados ... 11
10 Características de desempenho *AESKULISA*® ... 13
10.1 Sensibilidade e especificidade analíticas ... 13
10.2 Sensibilidade e especificidade diagnóstica ... 13
10.3 Valores esperados ... 14
10.4 Precisão ... 14
11 Indicações de segurança ... 15
11.1 Advertências e procedimentos de segurança ... 15
11.2 Eliminação ... 16
12 Referências ... 16

1 Finalidade

Os *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG e IgM são imunoensaios qualitativos e quantitativos para comprovar a presença de anticorpos IgG e IgM humanos no soro ou no plasma produzidos contra o vírus herpes simplex 1 e 2. O *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1/2 IgM suporta a deteção de infeções agudas. O *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG permite a confirmação de um contacto com o agente patogénico e auxilia a determinação do estado de imunidade.

Os *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG e *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG são imunoensaios qualitativos e quantitativos para a deteção de anticorpos IgG humanos no soro ou no plasma dirigidos contra o vírus herpes simplex 1 (HSV 1) ou vírus herpes simplex 2 (HSV 2). O *AESKULISA*® Herpes Simplex Vírus 1 (gG1) IgG e *AESKULISA*® Herpes Simplex Vírus 2 (gG2) IgG apoiam a determinação do estado imunitário e a tipagem de uma infeção pelo HSV.

O *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG, *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG e *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG são também utilizados para a deteção de anticorpos intratecais no *Liquor cerebrospinalis*.

A interpretação dos resultados pode apenas ser realizada no contexto do quadro clínico. Não se deverá fundamentar o diagnóstico com base nos resultados dos testes realizados, uma vez que este diagnóstico deverá ser feito sempre depois de se avaliarem todos os dados clínicos e de medicina laboratorial. Para a confirmação devem ser realizados outros exames. Os imunoensaios *AESKULISA*® são concebidos exclusivamente para utilização para diagnóstico *in vitro* apenas por pessoal qualificado, com formação, especialmente treinado e familiarizado com os métodos laboratoriais.

2 Importância diagnóstica

Os vírus herpes simplex 1 (HSV 1) e 2 (HSV 2) são vírus patogénicos humanos da família *Herpesviridae*, também conhecidos como vírus do herpes humano 1 (HHV 1) e vírus do herpes humano 2 (HHV 2), prevalentes em todo o mundo. A transmissão do vírus herpes simplex 1 (HSV 1) ocorre principalmente através do contacto com saliva ou infeções por esfregaço. Consequentemente, um elevado risco de infeção com HSV 1 vem de pessoas com *Herpes labialis*. O vírus herpes simplex 2 (HSV 2) é geralmente transmitido através do contacto com as mucosas. Consequentemente, a infeção através de relações sexuais desempenha um papel crucial na propagação do HSV 2.

Os vírus herpes simplex causam várias doenças do herpes simplex, incluindo o *Herpes labialis* e o *Herpes genitalis*, mas também a encefalite do herpes simplex e, nos recém-nascidos, o *Herpes neonatorum*. As infeções primárias pelo HSV 1 são clinicamente inaparentes em 90% dos casos. Cerca de 10 % das pessoas infetadas desenvolvem inflamação da córnea e conjuntivite, bem como as características vesículas de herpes nos lábios *(Herpes labialis*). Estas erupções pustulares podem alastrar na pele eczematosa, ao ponto de constituírem perigo de vida. Outras complicações incluem encefalite ou meningoencefalite. As infeções primárias pelo HSV 2 são aparentes em cerca de 12% com abortos espontâneos, vulvovaginite ou florescências do escroto peniano *(Herpes genital*). Após a infeção, os vírus herpes simplex persistem no corpo para toda a vida. Mesmo após um período de latência de muitos anos, o enfraquecimento do sistema imunitário pode desencadear uma reativação.

Para o diagnóstico de uma infeção por vírus do herpes simplex, estão disponíveis tanto procedimentos comprovativos diretos como indiretos. No diagnóstico de rotina, a deteção indireta de infeções por vírus herpes simplex é efetuada através da deteção serológica de anticorpos IgG e IgM específicos do HSV.

3 Princípio do teste *AESKULISA*®

O *AESKULISA*® (AESKU *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) é um procedimento imunológico, que comprovou a sua eficácia especialmente na deteção de anticorpos. A reação de comprovação baseia-se na interação específica de anticorpos e antigénios. Para esse efeito, as tiras de teste das placas de microtitulação da *AESKULISA*® foram revestidas com antigénios específicos de agentes infecciosos para a fixação dos anticorpos existentes na amostra do paciente. Outros anticorpos secundários marcados com peroxidase detetam os imunocomplexos assim formados. A enzima catalisa uma reação, em cuja evolução, um substrato incolor é transformado num produto com cor. A intensidade de sinal do produto de reação é proporcional à atividade de anticorpo na amostra e é registada fotometricamente.

4 Antigénio

A deteção de anticorpos com o *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG e IgM baseia-se na utilização de uma mistura de vírus inativados do herpes simplex HSV 1 (estirpe MacIntyre) e HSV 2 (estirpe MS).

A deteção de anticorpos com o *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG baseia-se na utilização de um fragmento interno purificado por afinidade da glicoproteína gG1 do HSV 1. A deteção de anticorpos com o *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG baseia-se na utilização de um fragmento interno purificado por afinidade da glicoproteína gG2 do HSV 2.

5 Componentes do *AESKULISA*®

Componentes do teste	Cor da solução	Cor da tampa	Número / Volume
Tiras de microtitulação quebráveis MP cada uma, com oito cavidades individuais revestidas (total 96), 1 estrutura de teste. O material de revestimento específico do teste está inativado.	-	-	12 unidades
Calibradores A – D CAL (prontos a usar) Soro humano ou anticorpo quimérico em solução com proteína (BSA); com corante; conservante ProClin. As atividades dos anticorpos dos calibradores estão indicadas nos respetivos rótulos e no certificado de controlo de qualidade do *AESKULISA*®.	amarelo*	branco	4 x 1,5 ml
Controlo positivo CON + (prontos a usar) Soro humano ou anticorpo quimérico em solução com proteína (BSA); com corante; conservante ProClin.	amarelo*	vermelho	1 x 1,5 ml
Controlo negativo CON – (pronto a usar) Soro humano ou anticorpo quimérico em solução com proteína (BSA); com corante; conservante ProClin.	amarelo*	verde	1 x 1,5 ml
Diluente de amostra SB 5x**, 5x conc.** Solução com proteínas (BSA); com corante; Conservante < 0,1 % azida de sódio. O diluente de amostra para os *AESKULISA*® IgM Immunoassays contém absorvente Rf.	IgG, IgA: amarelo IgM: verde	branco	1 x 20 ml
Solução de lavagem WASHB 50x**, 50x conc.** Solução com Tween 20; com corante; conservante ProClin.	verde	branco	1 x 20 ml

Conjugado anti-IgA, IgG ou IgM humano CONJ (pronto a usar) Anticorpo policlonal dirigido contra IgA, IgG ou IgM humana, conjugado com peroxidase de rábano, estabilizado numa solução com proteínas (BSA); com corante; conservante ProClin.	IgA: vermelho IgG: azul IgM: verde	IgA: vermelho IgG: azul IgM: verde	1 x 15 ml
Substrato SUB (pronto a usar) TMB/H_2O_2.estabilizado	incolor	preto	1 x 15 ml
Solução de paragem PARAGEM (pronta a usar) 1 M ácido clorídrico (HCl).	incolor	branco	1 x 15 ml
Certificado de controlo de qualidade	-	-	1 unidade
Instruções para a utilização	-	-	1 unidade

*A intensidade da cor aumenta com a atividade de anticorpo.

6 Materiais adicionalmente necessários

- Equipamento de laboratório habitual com material em vidro (cilindro 100 – 1000 ml), tubos para diluições, misturador de vórtice, micropipetas (10, 100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipeta ajustável (100 – 1000 µl).
- Espectrofotómetro para placas de microtitulação com filtro, comprimento de onda 450 nm, comprimento de onda de referência recomendado na gama de 600 a 690 nm (p. ex. 620 nm).
- Dispositivo de lavagem para placas de microtitulação
  (multipipeta 300 µl, pipeta multicanais ou sistema automático de lavagem).
- Papel de filtro
- *Água destilada*
  Os *AESKULISA*® Immunoassays foram desenvolvidos com água purificada (*purified water*), conforme definição dada pela Farmacopeia dos Estados Unidos (USP 26 - NF 21) e pela Farmacopeia Europeia (Eur. Ph. 4te Ed.).

7 Armazenamento e prazo de validade

As tiras de microtitulação devem ser sempre guardadas na película de embalagem e fechadas com o saco de secagem. Se o armazenamento for realizado corretamente na embalagem original e a conservação for realizada de 2 a 8 °C, os reagentes e a placa de microtitulação podem ser conservados, mesmo após a quebra, até à data de expiração indicada. As soluções diluídas têm uma validade de quatro semanas, sendo conservadas de 2 a 8 °C.

8 Execução do *AESKULISA*®

8.1 Indicações gerais

O cumprimento exato das instruções para a utilização garante resultados de teste corretos. Para uma utilização correta dos *AESKULISA*® Immunoassays, podem apenas ser utilizados reagentes *AESKULISA*®. Estes últimos não podem ser substituídos por reagentes de outros fabricantes.

As placas de microtitulação, os calibradores, os controlos e os conjugados dos *AESKULISA*® Immunoassays são ajustados especificamente de acordo com o teste e o lote e não podem ser utilizados noutros lotes. As avaliações dos calibradores e controlos são indicadas no certificado de controlo de qualidade do *AESKULISA*® Immunoassay. A solução de lavagem, a solução do substrato e a solução de paragem podem ser combinadas com todos os *AESKULISA*® Immunoassays, independentemente do teste e do lote utilizado.

O diluente de amostra dos *AESKULISA*® Immunoassays IgA e IgG pode ser usado com todos os *AESKULISA*® Immunoassays IgA e IgG (REF 6xxx), independentemente do teste e do lote utilizado. O diluente de amostra dos *AESKULISA*® IgM Immunoassays contém absorvente Rf e pode ser usado com todos os *AESKULISA*® IgM Immunoassays para a serologia infecciosa (REF 6xxx), independentemente do teste e do lote utilizado.

Para evitar uma contaminação, devem ser sempre aplicadas técnicas asséticas para retirar os reagentes. A solução de conjugado e substrato nunca deverá ser pipetada com ponteiras contaminadas com outros reagentes. A reprodutibilidade dos resultados está, entre outros, dependente da homogeneização cuidadosa dos reagentes. Por esse motivo, as diluições dos reagentes e das amostras devem ser bem misturadas antes da utilização. Uma diluição incorreta pode ter como resultado a perda da sensibilidade.

Além disso, deve ter-se atenção a uma técnica de pipetagem cuidadosa e ao cumprimento das temperaturas e dos tempos incubação especificados. Uma lavagem correta evita inespecificidades dos testes.

Durante o armazenamento e a incubação, os reagentes devem ser protegidos da exposição à luz intensa. Nunca podem ser expostos a temperaturas superiores a 37 °C. Depois da utilização, os reagentes devem voltar a ser bem fechados para evitar a secagem e a contaminação. Ao fechar os frascos deve evitar-se trocar as tampas.

Os *AESKULISA*® Immunoassays podem apenas ser avaliados se os critérios de validade tiverem sido cumpridos.

8.2 Preparação de reagentes

Todos os componentes e a placa de microtitulação tem de ser colocados à temperatura ambiente (20 – 25 °C) antes de se iniciar o teste. Os reagentes líquidos têm de ser bem misturados. Para a diluição dos concentrados tampão podem apenas ser utilizados frascos de vidro limpos.

8.2.1 Tiras de microtitulação (prontas a usar)

As tiras de microtitulação contêm abreviaturas do antigénio com que foram revestidas.

8.2.2 Calibradores (prontos a usar)

Os calibradores CAL A – CAL D estão prontos a usar e não podem ser diluídos. Em cada execução do teste, os calibradores têm de acompanhar o teste, independentemente do número de tiras de teste utilizadas.

8.2.3 Controlos (prontos a usar)

Os controlos positivos CON+ e os controlos negativos CON– estão prontos a usar e não podem ser diluídos. Em cada execução do teste, os controlos têm de acompanhar o teste, independentemente do número de tiras de teste utilizadas.

Independentemente das diretivas nacionais, os laboratórios podem também validar e utilizar alternativamente controlos próprios.

8.2.4 Diluente de amostra (5x conc.)

O diluente de amostra concentrado tem de ser diluído 1:5 com água destilada, antes da utilização (p. ex. 20 ml + 80 ml). O diluente de amostra dos *AESKULISA*® IgM Immunoassays contém absorvente Rf.

8.2.5 Solução de lavagem (50x conc.)

A solução de lavagem concentrada tem de ser diluída 1:50 com água destilada, antes da utilização (p. ex. 20 ml + 980 ml).

8.2.6 Conjugado POD anti-IgA, IgG ou IgM humano (pronto a usar)

O conjugado está pronto a usar.

8.2.7 Substrato (pronto a usar)

O substrato TMB tem de ser sempre pipetado em ponteiras novas para evitar contaminações. A solução do substrato deve ser protegida contra a exposição à luz intensa.

8.2.8 Solução de paragem (pronta a usar)

A solução de paragem está pronta a usar.

8.3 Preparação da amostra

8.3.1 Material de amostra

Recomenda-se a utilização de amostras de soro ou plasma EDTA frescas. Não devem ser usadas amostras ictéricas, lipémicas, hemolisadas ou com contaminação bacteriana. As amostras singulares devem ser centrifugadas (< 1000 x g) e o sobrenadante deve ser retirado para outra utilização. As amostras não podem ser termicamente inativadas.

8.3.2 Diluição da amostra

As amostras dos pacientes têm de ser diluídas 1:101 (p. ex. 10 µl + 1000 µl) com 1x diluente de amostra e bem misturadas.

8.3.3 Absorção do fator reumatoide com *AESKULISA*® IgM

Os fatores reumatoides (Rf) são predominantemente autoanticorpos da classe IgM, que se fixam preferencialmente aos imunocomplexos IgG. A comprovação da presença de anticorpos IgM específicos para o agente patogénico pode levar a resultados falso positivos devido a esses fatores reumatoides. Além disso, os anticorpos IgM, específicos para o agente patogénico, com ligação mais fraca, podem ser afastados por anticorpos IgG com ligação mais forte. Um comprovativo IgM pode então produzir um falso negativo. Por esse motivo, o diluente de amostra dos *AESKULISA*® IgM Immunoassays contém um absorvente Rf especial. A absorção Rf é efetuada através da diluição da amostra do paciente num diluente de amostra 1x dos *AESKULISA*® IgM Immunoassays e seguido de uma incubação durante, no mínimo, 15 minutos, à temperatura ambiente.

8.3.4 Armazenamento da amostra

As amostras dos pacientes devem ser utilizadas dentro de 8 horas e não devem ser guardadas por um período superior a 48 horas, devendo ser conservadas entre 2 – 8 °C. É possível um armazenamento mais prolongado das amostras a ≤ -20 °C. Deve evitar-se a descongelação e congelação repetidas.

8.4 Execução

8.4.1 Esquema de pipetagem

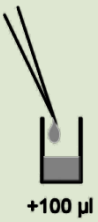
De acordo com a aplicação quantitativa ou qualitativa pretendida do *AESKULISA*® Immunoassay recomenda-se o esquema de pipetagem seguinte:

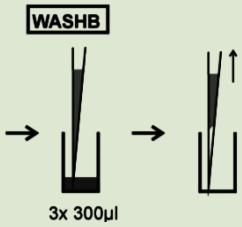
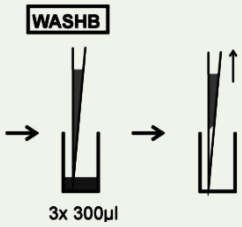
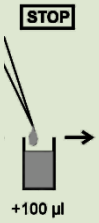
	Aplicação quantitativa						Aplicação qualitativa				
	1	2	3	4			1	2	3	4	
A	CAL A	P3				A	CON–	P5			
B	CAL B	P4				B	CAL B	P6			
C	CAL C	P5				C	CAL B	…			
D	CAL D	P6				D	CON+				
E	CON–	…				E	P1				
F	CON+					F	P2				
G	P1					G	P3				
H	P2					H	P4				

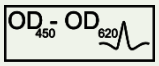
	CAL A	Calibrador A		CON–	Controlo negativo
	CAL B	Calibrador B		CAL B	Controlo *cut off*
	CAL C	Calibrador C		CON+	Controlo positivo
	CAL D	Calibrador D			
	CON–	Controlo negativo			
	CON+	Controlo positivo			

8.4.2 Realização do teste

Colocar o número de cavidades necessárias na estrutura do teste e criar uma folha de protocolo. Para o processamento manual recomenda-se a utilização à temperatura ambiente.

Passo de trabalho	Símbolo	Descrição
1. Adição de calibradores, controlos e amostras diluídas		Adição de 100 µl de calibradores, controlos e amostras diluídas prontos a usar em cada cavidade.
2. Incubação da amostra		Incubação durante 30 +/- 3 minutos a 20 – 32 °C.

3. Lavar 3 x		Aspirar o líquido das cavidades; por cavidade, encher 300 µl de 1x solução de lavagem, aspirar a solução de lavagem e repetir o procedimento mais 2x; bater a placa.
4. Adição do conjugado		Adição de 100 µl de solução de conjugado pronta a usar, em cada cavidade.
5. Incubação do conjugado		Incubação durante 30 +/- 3 minutos a 20 – 32 °C.
6. Lavar 3 x		Aspirar o líquido das cavidades; por cavidade, encher 300 µl de 1x solução de lavagem, aspirar a solução de lavagem e repetir o procedimento mais 2x; bater a placa.
7. Adição do substrato		Adição de 100 µl de solução de substrato pronta a usar, em cada cavidade.
8. Incubação do substrato		Incubação durante 30 +/- 3 minutos a 20 – 32 °C. Proteger da radiação de luz intensa.
9. Adição de solução de paragem		Adição de 100 µl de solução de paragem em cada cavidade na ordem da adição do substrato.
10. Incubação		Opcional: Incubar durante 5 minutos.
11. Misturar		Agitar cuidadosamente a placa durante 5 segundos.

12. Análise	 450/620 nm	Medir a densidade ótica no prazo de 30 minutos em 450 nm contra um comprimento de onda de referência recomendado de 620 nm.

8.5 Execução no caso de aplicação automatizada

O processamento dos *AESKULISA*® Immunoassays é efetuado analogamente à aplicação manual. A execução do teste indicada deve ser respeitada. Os *AESKULISA*® Immunoassays estão avaliados para serem utilizados com os mais variados instrumentos; os respetivos Assay files serão disponibilizados a pedido. Para o processamento automático de *AESKULISA*® Immunoassays noutros aparelhos, a avaliação dos Assay files é recomendada pelo fornecedor do kit de teste em colaboração com o fornecedor do instrumento. O processamento automático correto do *AESKULISA*® Immunoassay terá de ser, em seguida, validado pelo utilizador.

8.6 Diagnóstico do liquor

O *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG, *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG e *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG são utilizados para a deteção de anticorpos intratecais no *Liquor cerebrospinalis*. A aplicação encontra-se descrita em instruções para a utilização separadas, que serão disponibilizadas a pedido.

9 Avaliação *AESKULISA*®

9.1 Normalização

A calibração do *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus IgG e IgM foi realizada em soros de referência internos. Os resultados quantitativos são apresentados em U/ml.

9.2 Avaliação quantitativa

Basicamente é recomendada a avaliação quantitativa para os *AESKULISA*® Immunoassays. Para gerar a curva padrão, os sinais de medição ótica (densidade ótica, OD) dos calibradores são aplicados contra a sua atividade de anticorpo (em IU/ml ou U/ml). As atividades de anticorpo dos calibradores estão indicadas no certificado de controlo de qualidade *AESKULISA*® específico do lote. Para a avaliação, recomendamos coordenadas log/lin e uma logística de ajuste de 4 parâmetros (4 PL). Com base na curva gerada, a partir dos sinais de medição óticos das amostras, é deduzida a sua atividade de anticorpo correspondente.

9.3 Área limite

A área limite do *AESKULISA*® Immunoassay encontra-se indicada no certificado de controlo de qualidade e identifica a área dos resultados de medição de limite. A avaliação de uma amostra de um paciente abaixo da área de limite caracteriza um resultado de teste negativo; a avaliação de uma amostra de um paciente acima da área de limite é interpretada como um resultado positivo. Devido às diferentes seroprevalências e programas de vacinação recomendamos que se verifique e eventualmente ajuste a área de limite através de análises próprias.

9.4 Áreas de medição

A área de medição do *AESKULISA*® Immunoassay encontra-se indicada no certificado de controlo de qualidade. No âmbito do estudo de avaliação do desempenho foram comprovadas a linearidade de diluição das amostras, bem como a elevada precisão e reprodutibilidade dos resultados de medição nesta área. As amostras que fornecem resultados acima da área de medição, devem ser avaliadas com >máx. As amostras que fornecem resultados abaixo da área de medição, devem ser avaliadas com <mín. Se as amostras dos pacientes atingirem valores de medição acima da área de medição, podem ser novamente analisadas numa diluição superior. Para a quantificação, as atividades de anticorpo contidas devem ser multiplicadas pelo fator de diluição adicional.

9.5 Avaliação qualitativa

A avaliação qualitativa com *AESKULISA*® Immunoassays é realizada com base na comparação da densidade ótica (OD) da amostra do paciente com a densidade ótica média do calibrador B (calibrador de *cut off* CAL B) aplicado em duplicado. Se a densidade ótica da amostra do paciente se situar na área +/- 20 % do valor médio da densidade ótica do calibrador de *cut off* CAL B, esta deve ser avaliada como ambígua. Com uma OD mais elevada, a amostra do paciente é positiva, com uma OD mais reduzida, deve ser classificada como negativa.

9.6 Critérios de validade

Para uma realização do teste válida, terão de cumprir-se os seguintes critérios de validade:

- OD CAL A < 0,3
- OD CAL A < OD CAL B < OD CAL C < OD CAL D
- OD CAL D > 1,3
- O controlo negativo tem de ser avaliado negativamente.
- O controlo positivo não pode ser avaliado negativamente.
- No caso de aplicação quantitativa do *AESKULISA*® Immunoassays, o controlo positivo terá de se situar na área de validade indicada no certificado de controlo de qualidade *AESKULISA*® específico do lote.
- No caso de aplicação qualitativa dos *AESKULISA*® Immunoassays, os valores OD do calibrador B *cut off* (CAL B) em duplicado, não podem divergir mais de 20 % entre si.

Se estes critérios não forem cumpridos o teste é inválido e tem de ser repetido.

No caso de uma realização inválida do teste, deverão verificar-se os prazos de validade dos reagentes (prontos a usar), as condições de armazenamento, os tempos e as temperaturas de incubação, as pipetas, o sistema de lavagem, incluindo os ciclos de lavagem, o fotómetro, bem como outros aparelhos utilizados. Caso não se encontre qualquer motivo para a realização inválida do teste ou para outros resultados divergentes, contacte o fornecedor ou o fabricante do kit de teste.

9.7 Interpretação dos resultados

Um resultado positivo no *AESKULISA*® Immunoassay confirma a presença de anticorpos específicos. Um resultado negativo indica que, na amostra do paciente não existe atividade de anticorpo relevante contra o agente patogénico, no entanto, não exclui uma infeção muito recente. No caso de um resultado ambíguo não é possível efetuar uma avaliação segura da amostra do paciente. Nesse caso, o teste deverá ser repetido paralelamente com uma nova amostra de soro (pares de soro) recolhida com um intervalo de uma a duas semanas.

No decurso de uma infeção primária por HSV, são produzidos inicialmente anticorpos IgM. A produção de anticorpos IgG ocorre numa fase ligeiramente posterior. Uma infeção primária por HSV pode assim ser detetada serologicamente por seroconversão. Os anticorpos IgM contra os vírus herpes simplex podem persistir durante meses e complicar a interpretação dos resultados serológicos. São também uma visão regular nas reativações do HSV. Além disso, os anticorpos IgM contra HSV podem ocorrer como resultado da estimulação policlonal por outros agentes patogénicos. Os anticorpos IgG específicos de HSV são geralmente retidos para toda a vida. As reações cruzadas de anticorpos contra outros vírus do herpes (por exemplo VZV, CMV, EBV) não podem ser excluídas.

Uma aplicação importante da serologia - também durante a fase de latência - é a deteção de anticorpos IgG específicos do subtipo de HSV para identificar potenciais portadores de HSV que poderiam transmitir os vírus a indivíduos suscetíveis. Em particular, as deteções de IgG do subtipo HSV 2 são utilizadas para identificar mulheres grávidas que têm uma elevada probabilidade de transmitir o vírus a recém-nascidos. A tipagem serológica de uma infeção por HSV é obtida através da deteção de anticorpos IgG contra as glicoproteínas G (gG) de superfície específica do tipo de vírus HSV 1 (gG1) e HSV 2 (gG2). Estas últimos são formadas com um atraso temporal no decurso de uma infeção por HSV, de modo que um resultado positivo no *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG não exclui resultados negativos nos *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG e *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG.

Esquema de interpretação básico dos resultados serológicos

Atividade IgM do HSV 1/2	Atividade IgG do HSV 1/2	Avaliação
negativo	negativo	Não são comprováveis anticorpos específicos. No caso de existir uma suspeita fundamentada, recomenda-se a realização de outro teste após uma a duas semanas.
positivo	negativo / positivo	Indicação de uma infeção aguda por HSV. Para a confirmação são recomendados outros exames.
negativo	positivo	Indicação de infeção prévia por HSV / latência.

Atividade IgG do HSV 1 (gG1)	Atividade IgG do HSV 2 (gG2)	Avaliação
positivo	negativo	Indicação de infeção prévia por HSV 1 / latência.
negativo	positivo	Indicação de infeção prévia por HSV 2 / latência.
positivo	positivo	Indicação de infeção prévia por HSV 1 e HSV 2 / latência.

A interpretação dos resultados pode apenas ser realizada no contexto do quadro clínico. Não se deverá fundamentar o diagnóstico com base nos resultados dos testes realizados, uma vez que este diagnóstico deverá ser feito sempre depois de se avaliarem todos os dados clínicos e de medicina laboratorial. Para a confirmação devem ser realizados outros exames.

10 Características de desempenho *AESKULISA*®

10.1 Sensibilidade e especificidade analíticas

O Limite de Branco (LoB) foi avaliado através de múltiplas análises de poços que contêm apenas amostras de tampão. O Limite de Deteção (LoD) foi avaliado através de múltiplas análises de amostras negativas.

	Limite de Branco (LoB)	Limite de Deteção (LoD)
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG	0,26 U/ml	1,75 U/ml
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgM	0,54 U/ml	2,15 U/ml
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG	0,37 U/ml	1,98 U/ml
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG	0,40 U/ml	1,94 U/ml

A especificidade analítica dos *AESKULISA*® Immunoassays foi examinada através da adição de substâncias potencialmente interferentes às amostras e determinação da sua influência sobre o resultado de medição. Não foi possível detetar uma influência significativa da hemoglobina (até 800 mg/dl), da bilirrubina (até 20 mg/dl), do conjugado de bilirrubina (até 20 mg/dl) e dos triglicerídeos (até 3000 mg/dl) sobre os resultados de medição.

10.2 Sensibilidade e especificidade diagnóstica

Para o cálculo da sensibilidade e especificidade dos imunoensaios *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus IgG e IgM foram examinados respetivamente mais de 160 soros de dadores de sangue e pessoas com suspeita de infeção por vírus herpes simplex e os resultados foram comparados com os resultados dos ensaios imunológicos dos vírus herpes simplex IgG e IgM de concorrentes europeus líderes.

	Sensibilidade	Especificidade
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG	96,8 %	> 99 %
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgM	> 99 %	> 99 %
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG	98,1 %	> 99 %
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG	> 99 %	97,4 %

Para o cálculo da sensibilidade e especificidade não foram considerados os resultados classificados como ambíguos.

10.3 Valores esperados

A examinação dos soros de dadores de sangue não selecionados com *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus IgG e IgM resultou na seguinte divisão:

AESKULISA®	Número de amostras	negativo	ambíguo	positivo
HSV 1/2 IgG	100	14 (14,0 %)	1 (1,0 %)	85 (85,0 %)
HSV 1/2 IgM	100	98 (98,0 %)	2 (2,0 %)	0 (0,0 %)
HSV 1 (gG1) IgG	100	29 (29,0 %)	6 (6,0 %)	65 (65,0 %)
HSV 2 (gG2) IgG	100	86 (86,0 %)	4 (4,0 %)	10 (10,0 %)

10.4 Precisão

Para o apuramento da precisão e reprodutibilidade dos resultados de medição com *AESKULISA*® Herpes Simplex Virus IgG e IgM, os intraensaio e interensaio, bem como a variação inter-lotes foram determinados com várias amostras de diferentes atividades de anticorpos.

AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG

Amostra	Extinção (OD)	Atividade IgG	Intraensaio CV (U/ml)	Interensaio CV (U/ml)	Inter-lotes CV (U/ml)
Soro 1	0,196	2,7 U/ml	5,2 %	6,9 %	8,6 %
Soro 2	0,994	22,4 U/ml	4,8 %	5,5 %	5,4 %
Soro 3	1,286	34,5 U/ml	5,5 %	7,4 %	7,0 %
Soro 4	1,576	50,8 U/ml	5,9 %	8,1 %	7,2 %
Soro 5	2,132	101,5 U/ml	6,2 %	6,7 %	7,7 %

AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgM

Amostra	Extinção (OD)	Atividade IgM	Intraensaio CV (U/ml)	Interensaio CV (U/ml)	Inter-lotes CV (U/ml)
Soro 1	0,239	5,4 U/ml	4,5 %	8,2 %	13,8 %
Soro 2	0,339	9,2 U/ml	4,0 %	8,0 %	14,0 %
Soro 3	0,441	11,7 U/ml	5,4 %	8,5 %	14,5 %
Soro 4	0,537	16,7 U/ml	4,0 %	5,5 %	15,0 %
Soro 5	0,674	22,3 U/ml	3,8 %	5,1 %	13,0 %

AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG

Amostra	Extinção (OD)	Atividade IgG	Intraensaio CV (U/ml)	Interensaio CV (U/ml)	Inter-lotes CV (U/ml)
Soro 1	0,368	6,8 U/ml	5,9 %	9,2 %	7,8 %
Soro 2	0,870	23,2 U/ml	4,4 %	8,1 %	5,8 %
Soro 3	1,093	32,3 U/ml	2,9 %	6,7 %	7,5 %
Soro 4	1,579	59,0 U/ml	4,5 %	6,2 %	7,0 %
Soro 5	1,897	79,1 U/ml	3,2 %	4,0 %	4,7 %

AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG

Amostra	Extinção (OD)	Atividade IgG	Intraensaio CV (U/ml)	Interensaio CV (U/ml)	Inter-lotes CV (U/ml)
Soro 1	0,490	12,6 U/ml	4,0 %	11,7 %	5,3 %
Soro 2	0,990	31,6 U/ml	4,2 %	9,6 %	10,7 %
Soro 3	1,058	34,6 U/ml	2,9 %	7,3 %	7,8 %
Soro 4	1,215	41,0 U/ml	4,1 %	7,0 %	9,2 %
Soro 5	2,026	89,9 U/ml	3,1 %	6,6 %	7,3 %

Mediante pedido, estão disponíveis relatórios de estudo mais abrangentes sobre características adicionais de desempenho, como sensibilidade analítica, especificidade analítica, veracidade, veracidade, precisão, recuperação, linearidade, limites de deteção e alcance de medição.

11 Indicações de segurança

11.1 Advertências e procedimentos de segurança

Os *AESKULISA*® Immunoassays estão exclusivamente previstos para o diagnóstico *in vitro* e apenas pela aplicação por parte de profissionais qualificados, que dominem perfeitamente as técnicas de trabalho. Para o manuseamento dos reagentes do teste e das amostras dos pacientes aplicam-se as regras reconhecidas da boa prática laboratorial. Se o produto estiver danificado ou as informações do produto, incluindo a rotulagem, estiverem incorretas ou contiverem erros, contacte o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Não pipetar com a boca. Nas áreas onde se trabalha com reagentes de teste ou com amostras de pacientes não se deve comer, beber ou fumar. Na manipulação de reagentes de testes e amostras de pacientes evitar o contacto direto através do uso de batas de laboratório, luvas descartáveis e óculos de proteção. Em seguida, lavar bem as mãos.

O produto contém diluições de soros humanos. Embora todos os soros utilizados tenham sido testados negativos para anticorpos anti-HIV 1- e 2-Ak, HBsAg (antigénio de superfície do vírus da hepatite B) e anticorpos anti-HCV-Ak, têm de ser considerados potencialmente infecciosos. Além disso, o produto contém ingredientes de origem animal. Durante a utilização deverão ser respeitadas as diretrizes nacionais aplicáveis.

Dado que os componentes individuais do kit contêm reagentes potencialmente perigosos, estes poderão causar irritação nos olhos e na pele.

Os componentes individuais contêm azida de sódio (NaN_3) como conservante. A azida de sódio pode ser tóxica se ingerida ou se for absorvida através da pele ou dos olhos. A azida de sódio pode reagir com chumbo ou cobre das canalizações e formar azidas de metal altamente explosivas. Para evitar a acumulação de azida, deverá lavar essas soluções com uma grande quantidade de água, durante a sua eliminação.

Os calibradores e controlos, bem como as amostras dos pacientes devem ser classificados como potencialmente infecciosos e devem ser manipulados de acordo com as diretivas nacionais. As amostras dos pacientes e todos os materiais potencialmente infecciosos devem ser descontaminados após a realização do teste.

Os reagentes devem ser guardados fora do alcance de crianças.

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido relativamente ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro onde se encontra o utilizador e/ou o paciente.

Um resumo de Segurança e Desempenho está disponível através da Eudamed, bem como a pedido.

11.2 Eliminação

Para a descontaminação e eliminação, respeite as recomendações da CDC, bem como a legislação local e nacional em vigor!

12 Referências

Marchi, S., Trombetta, C.M., Gasparini, R., Temperton, N., Montomoli, E. (2017) Epidemiology of herpes simplex virus type 1 and 2 in Italy: a seroprevalence study from 2000 to 2014. J. Prev. Med. Hyg. *58*, E27 – E33.

Sauerbrei, A. (2014) Diagnostik und antivirale Therapie von Herpes-simplex-Virus-Infektionen. Mikrobiologe *24*, 150 – 8.

Sauerbrei, A. (2014) Herpes-simplex-Virus-Infektionen. AWMF-Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen.

Simboli sulle etichette / Symbols on labels / Symboles sur étiquettes / Símbolos sobre las etiquetas / Symbole auf den Etiketten / Σύμβολα στις ετικέτες / Símbolos nos rótulos

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
CE	Conformità europea, EC Declaration of Conformity, Déclaration CE de Conformité, Declaración CE de Conformidad, Europäische Konformität, Ευρωπαϊκή συμφωνία, Declaracão CE de Conformidade
Σ 96	96 determinazioni, 96 tests, 96 tests, 96 ensayos, 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 instruções 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, Store at 2-8°C (35-46°F), Conserver à 2-8°C, Conservar a 2-8°C, Lagerung bei 2-8°C, Φυλάσσεται στους 2-8°C, Conservar entre 2-8°C
	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 αθμονόμησης, Calibrador de cut-off
CON +	Controllo positivo, Positive Control, Contrôle Positif, Control Positivo, Positiv Kontroll, 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
RC	Recupero, Recovery, Corrélation, Recuperado, Wiederfindung, Ανάκτηση, Recuperação
CONJ	Coniugato, Conjugate, Conjugé, Conjugado, Konjugat, Σύζευγμα, Conjugado,

MP	Micropiastra rivestita, Coated microtiter plate, Microplaque sensibilisée, Microplaca recubierta, Beschichtete Mikrotiterplatte, Επικαλυμμένη μικροπλάκα, Microplaca revestida
WASHB	Tampone di lavaggio, Wash buffer, Tampon de Lavage, Tampón de lavado, Waschpuffer, Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης, Solução 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, Solução de paragem
SB	Tampone campione, Sample buffer, Tampon Echantillons, Tampón de muestra, Probenpuffer, Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων, Diluente de amostra