

# Product information

Information about other products is available at: [www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)



## Epstein-Barr Virus (EBNA-1) IgM ELISA



**DE4247**



**96**



Demeditec Diagnostics GmbH  
Lise-Meitner-Strasse 2  
24145 Kiel – Germany  
[www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)

**CONTENTS / CONTENIDO**

1	INTRODUCTION.....	3
2	PRINCIPLE OF THE TEST.....	3
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS.....	4
4	KIT COMPONENTS.....	5
5	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.....	6
6	ASSAY PROCEDURE.....	6
7	RESULTS.....	8
8	QUALITY CONTROL.....	8
9	ASSAY CHARACTERISTICS.....	8
10	LIMITATIONS OF USE.....	10
11	LEGAL ASPECTS.....	10
12	REFERENCES / LITERATURE.....	10
1	INTRODUCCIÓN.....	11
2	PRINCIPIO DE LA PRUEBA.....	11
3	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....	12
4	COMPONENTES DEL KIT.....	13
5	RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	14
6	PROCEDIMIENTO DE ENSAYO.....	14
7	RESULTADOS.....	16
8	CONTROL DE CALIDAD.....	16
9	CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO.....	17
10	LIMITACIONES DE USO.....	18
11	ASPECTOS JURÍDICOS.....	18
12	REFERENCIAS / BIBLIOGRAFÍA.....	18
	SHORT INSTRUCTIONS FOR USE / BREVE MANUAL DE INSTRUCCIONES.....	19
	SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS.....	20

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 Intended Use

The DEMEDITEC EBV-EBNA-1 IgM ELISA provides materials for the qualitative and semiquantitative determination of IgM-class antibodies to Epstein-Barr virus nuclear-1 antigen (EBV-EBNA-1) in human serum or -plasma.

**This assay is intended for in vitro diagnostic use only.**

### 1.2 Summary and Explanation

Epstein-Barr Virus (EBV) is a member of the herpesvirus family (Gamma subgroup, DNA virus of 120-200 nm) and one of the most common human viruses. The virus occurs worldwide, and most people become infected with EBV sometime during their lives. Transmission of the virus is almost impossible to prevent since many healthy people can carry and spread the virus intermittently for life. Infants become susceptible to EBV as soon as maternal antibody protection disappears. Infection of children usually causes no symptoms. Infection during adolescence or young adulthood causes infectious mononucleosis 35% to 50% of the time. Infectious mononucleosis is almost never fatal. There are no known associations between active EBV infection and problems during pregnancy, such as miscarriages or birth defects. Although the symptoms of infectious mononucleosis usually resolve in 1 or 2 months, EBV remains dormant or latent in a few cells in the throat and blood for the rest of the person's life. Periodically, the virus can reactivate and is commonly found in the saliva of infected persons. This reactivation usually occurs without symptoms of illness. EBV also establishes a lifelong dormant infection in some cells of the body's immune system. A late event in a very few carriers of this virus is the emergence of Burkitt's lymphoma and nasopharyngeal carcinoma, but EBV is probably not the sole cause of these malignancies.

## 2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DEMEDITEC EBV-EBNA-1 IgM ELISA Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Patient samples are diluted with Sample Diluent and additionally incubated with IgG-RF-Sorbent, containing hyper-immune anti-human IgG-class antibody to eliminate competitive inhibition from specific IgG and to remove rheumatoid factors. This pretreatment avoids false negative or false positive results. Microtiter wells as a solid phase are coated with recombinant EBV nuclear-1 antigen. Diluted patient specimens and ready-for-use controls are pipetted into these wells. During incubation EBNA-1-specific antibodies of positive specimens and controls are bound to the immobilized antigens. After a washing step to remove unbound sample and control material horseradish peroxidase conjugated anti-human IgM antibodies are dispensed into the wells. During a second incubation this anti IgM conjugate binds specifically to IgM antibodies resulting in the formation of enzyme-linked immune complexes. After a second washing step to remove unbound conjugate the immune complexes formed (in case of positive results) are detected by incubation with TMB substrate and development of a blue color. The blue color turns into yellow by stopping the enzymatic indicator reaction with sulfuric acid. The intensity of this color is directly proportional to the amount of EBNA-1-specific IgM antibody in the patient specimen. Absorbance at 450 nm is read using an ELISA microtiter plate reader.

### 3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
3. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
4. Avoid contact with Stop Solution containing 0.2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.
5. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
6. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided
7. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
8. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
9. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
10. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
11. Allow the reagents to reach room temperature (21 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
12. Never pipette by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
13. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
14. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
15. Handling should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
16. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
17. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
18. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
19. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according the national biohazard safety guideline or regulation.
20. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DEMEDITEC.

## 4 KIT COMPONENTS

### 4.1 Contents of the Kit

1. **SORB MT Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells; Wells coated with rec. EBV nuclear-1 antigen. (incl. 1 strip holder and 1 cover foil)
2. **SAM DIL Sample Diluent** \*, 1 vial, 100 mL, ready to use, colored yellow; pH  $7.2 \pm 0.2$ . Contains anti-human IgG-class antibody.
3. **IgG-RF SORB IgG-RF-Sorbent**\*, 1 vial, 6.5 mL; ready to use, colored yellow; Contains anti-human IgG-class antibody.
4. **CAL C Pos. Control** \*, 1 vial, 1.0 mL, ready to use; colored yellow, red cap.
5. **CAL A Neg. Control** \*, 1 vial, 2.0 mL, ready to use; colored yellow, yellow cap.
6. **CAL B Cut-off Control** \*, 1 vial, 2.0 mL, ready to use; colored yellow, black cap.
7. **ENZ CONJ Enzyme Conjugate** \*, 1 vial, 20 mL, ready to use, colored red, antibody to human IgM conjugated to horseradish peroxidase.
8. **SUB TMB Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use, Tetramethylbenzidine (TMB).
9. **STOP SOLN Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use, contains 0.2 mol/l  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
10. **WASH SOLN 20x Wash Solution** \*, 1 vial, 30 mL (20X concentrated for 600 mL), pH  $6.5 \pm 0.1$  see „Preparation of Reagents“.

\* contain non-mercury preservative

#### 4.1.1 Equipment and material required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450/620 nm  $\pm 10$  nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Incubator 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Vortex tube mixer
- Deionised or (freshly) distilled water
- Timer
- Absorbent paper

### 4.2 Storage and stability of the Kit

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date. Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again. Opened kits retain activity for two months if stored as described above.

### 4.3 Reagent Preparation

Allow all reagents and required number of strips to reach room temperature prior to use.

#### Wash Solution

Dilute Wash Solution **1+19** (e.g. 10 mL + 190 mL) with fresh and germ free redistilled water. This diluted wash solution has a pH value of  $7.2 \pm 0.2$ .

Consumption: ~ 5 mL per determination.

Crystals in the solution disappear by warming up to 37 °C in a water bath. Be sure that the crystals are completely dissolved before use. The diluted Wash Solution is stable for 4 weeks at 2 °C to 8 °C.

### 4.4 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheets.

### 4.5 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, DEMEDITEC has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

## 5 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum or plasma (EDTA-, heparin- or citrate\* plasma) can be used in this assay. (If \*citrate plasma is used, results could be little lower.) Do not use haemolytic, icteric or lipaemic specimens.

### 5.1 Specimen Collection

#### Serum:

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

#### Plasma:

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anti-coagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

### 5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and may be stored for up to 5 days at 2 °C to 8 °C prior to assaying. Specimens held for a longer time should be frozen only once at -20 °C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

### 5.3 Specimen Dilution

Prior to assaying each patient specimen is first to be diluted with Sample Diluent. For the absorption of rheumatoid factor these prediluted samples then have to be incubated with IgG-RF-Sorbent

1. Dilute each patient specimen **1+50** with Sample Diluent;  
e.g. 10 µL of specimen + 0.5 mL of Sample Diluent. **Mix well.**
2. Mix well the IgG-RF-Sorbent before use.
3. Dilute this prediluted sample **1+1** with IgG-RF-Sorbent  
e.g. 60 µL prediluted sample + 60 µL IgG-RF-Sorbent. **Mix well**
4. **Let stand at room temperature for at least 15 minutes, up to a maximum of 2 hours and mix well again.**
5. Take 100 µL of these pretreated samples for the ELISA.

**Please note:** Controls are ready for use and must not be diluted!

## 6 ASSAY PROCEDURE

### 6.1 General Remarks

- **It is very important to bring all reagents, samples and controls to room temperature before starting the test run!**
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- During 37 °C incubation cover microtiter strips with foil to avoid evaporation.

## 6.2 Assay Procedure

Prior to commencing the assay, dilute Wash Solution, **prepare patient samples as described in point 5.3** and establish carefully the **distribution and identification plan** supplied in the kit for all specimens and controls.

1. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Please allocate at least:

- |         |              |                          |     |
|---------|--------------|--------------------------|-----|
| 1 well  | (e.g. A1)    | for the substrate blank, |     |
| 1 well  | (e.g. B1)    | for the Neg. Control,    |     |
| 2 wells | (e.g. C1+D1) | for the Cut-off Control  | and |
| 1 well  | (e.g. E1)    | for the Pos. Control.    |     |

It is left to the user to determine controls and patient samples in duplicate.

2. Dispense
  - 100 µL** of Neg. Control into well B1
  - 100 µL** of Cut-off Control into wells C1 and D1
  - 100 µL** of Pos. Control into well E1 and
  - 100 µL** of each pretreated sample with new disposable tips into appropriate wells.

Leave well A1 for substrate blank!
3. Cover wells with foil supplied in the kit. Incubate for **60 minutes at 37 °C**.
4. Briskly shake out the contents of the wells.  
Rinse the wells **5 times** with diluted Wash Solution (**300 µL per well**). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.  
**Important note:**  
The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
5. Dispense **100 µL** Enzyme Conjugate into each well, **except A1**.
6. Incubate for **30 minutes at room temperature (20 °C to 25 °C)**.  
Do not expose to direct sun light!
7. Briskly shake out the contents of the wells.  
Rinse the wells **5 times** with diluted Wash Solution (300 µL per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
8. Add **100 µL** of Substrate Solution into all wells.
9. Incubate for **exactly 15 minutes at room temperature (20 °C to 25 °C) in the dark**.
10. Stop the enzymatic reaction by adding **100 µL** of Stop Solution to each well.  
Any blue color developed during the incubation turns into yellow.  
**Note:** Highly positive patient samples can cause dark precipitates of the chromogen!
11. Read the optical density at **450/620 nm** with a microtiter plate reader **within 30 minutes** after adding the Stop Solution.

## 6.3 Measurement

**Adjust** the ELISA microplate or microstrip reader **to zero** using the **substrate blank in well A1**.

If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the substrate blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!

**Measure the absorbance** of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each control and patient sample in the distribution and identification plan.

Dual wavelength reading using 620 nm as reference wavelength is recommended.

Where applicable **calculate the mean absorbance values** of all duplicates.

## 7 RESULTS

### 7.1 Validation of the Test Run

The test run may be considered valid provided the following criteria are met:

<b>Substrate blank in A1:</b>	Absorbance value <b>lower than 0.100</b>
<b>Neg. Control in B1:</b>	Absorbance value <b>lower than 0.200</b>
<b>Cut-off Control in C1/D1 :</b>	Absorbance value <b>between 0.350 – 0.850</b>
<b>Pos. Control in E1:</b>	Absorbance value <b>between 0.650 – 3.000</b>

### 7.2 Calculation

#### Mean absorbance value of Cut-off Control [CO]

Calculate the mean absorbance value of the two (2) Cut-off Control determinations (e.g. in C1/D1).

**Example:**  $(0.54 + 0.56)/2 = 0.55 = \text{CO}$

### 7.3 Interpretation

<b>POSITIVE</b>	Patient (mean) absorbance values more than 10 % above CO (Mean OD patient $> 1.1 \times \text{CO}$ )
<b>GREY ZONE</b>	Patient (mean) absorbance values from 10 % above to 10 % below CO repeat test 2 - 4 weeks later - with <u>new</u> patient samples ( $0.9 \times \text{CO} \leq \text{Mean OD patient} \leq 1.1 \times \text{CO}$ )
<b>NEGATIVE</b>	Results in the second test again in the grey zone $\Rightarrow$ <b>NEGATIVE</b> Patient (mean) absorbance values more than 10 % below CO (Mean OD patient $< 0.9 \times \text{CO}$ )

#### 7.3.1 Results in DEMEDITEC Units [U]

$\frac{\text{Patient (mean) absorbance value} \times 10}{\text{CO}} = [\text{Units} = \text{U}]$

**Example:**  $\frac{1.580 \times 10}{0.55} = 29 \text{ U}$

#### Interpretation of Results

Cut-off value:	10	U
Grey zone:	9 - 11	U
Negative:	< 9	U
Positive:	> 11	U

## 8 QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels. It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid. In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods. After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DEMEDITEC directly.

## 9 ASSAY CHARACTERISTICS

### 9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0.69 - 60 U/mL.

### 9.2 Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of the DEMEDITEC ELISA was calculated by adding 2 standard deviations from the mean of 20 replicate analyses of the negative control and was found to be 0.69 U/mL (OD<sub>450</sub> = 0.027).



### 9.3 Diagnostic Specificity

The diagnostic specificity is defined as the probability of the assay of scoring negative in the absence of the specific analyte. (Detected by method comparison with DIA.PRO EBV-EBNA-1 IgM ELISA, with three lots of DEMEDITEC ELISA. 91 samples, therefrom 79 negative samples are assayed)  
It is 96.34% for all three DEMEDITEC production lots.

### 9.4 Diagnostic Sensitivity

The diagnostic sensitivity is defined as the probability of the assay of scoring positive in the presence of the specific analyte. (Detected by method comparison with DIA.PRO EBV-EBNA-1 IgM ELISA, with three lots of DEMEDITEC ELISA. 91 samples, therefrom 9 positive samples are assayed)  
It is 100% for all three DEMEDITEC production lots.

### 9.5 Method Comparison

The DEMEDITEC EBV (EBNA-1) IgM ELISA was compared with the DIA.PRO EBV-EBNA-1 IgM ELISA. 91 serum samples are assayed.

	n= 91	DIA.PRO ELISA	
		pos.	neg.
Demeditec ELISA	pos.	9	3
	neg.	0	97

**Agreement: 96.70 %**

### 9.6 Reproducibility

**9.6.1** The intra-assay (within-run) precision of the DEMEDITEC EBV-EBNA-1 IgM ELISA was determined by 20 x measurements of 12 serum samples covering the whole measuring range.

Sample	Mean OD <sub>450</sub>	Intra-Assay CV (%)	n
1	0.30	5.67	20
2	0.21	5.96	20
3	0.08	5.61	20
4	0.85	3.17	20
5	0.93	2.94	20
6	0.67	3.20	20
7	1.21	4.13	20
8	1.15	3.26	20
9	1.47	3.11	20
10	1.86	3.50	20
11	2.31	3.99	20
12	2.02	2.17	20

**9.6.2** The inter-assay variation of the DEMEDITEC EBV-EBNA-1 IgM ELISA was determined with 3 samples with 2 production kits in 10 independent runs with 2 replicates per run.

Sample	Mean OD <sub>450</sub>	Inter-Assay CV (%)	n
1	1.50	7.64	40
2	1.66	7.58	40
3	1.11	6.34	40

## 10 LIMITATIONS OF USE

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the specimen may affect the absorbance values. In immunocompromised patients and newborns serological data only have restricted value.

## 11 LEGAL ASPECTS

### 11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test. The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DEMEDITEC.

### 11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient. Diagnosis of an infectious disease should not be established on the basis of a single test result. A precise diagnosis should take into consideration clinical history, symptomatology as well as serological data. Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived. The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

### 11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

## 12 REFERENCES / LITERATURE

1. Lamy ME., Favart AM., Cornu A. et al., "Study of Epstein-Barr virus (EBV) antibodies: IgG and IgM anti-VCA, IgG anti EA and Ig anti-EBNA obtained with an original microtiter technique. Serological criteria of primary and recurrent EBV infections and follow-up of infectious mononucleosis. Seroepidemiology of EBV in Belgium based on 5178 sera from patients". *Acta Clin. Belg.*, 37 (5): 281-298, (1982)
2. Lennette E., "Epstein-Barr Virus", in *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. Washington D.C., Am. Soc. Microbiol. P 728-732, (1985)
3. Luka J., Chase PC., Pearson GR., "A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I-Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens", *J. Immunol. Metho.*, 67: 145-156, (1984)

## 1 INTRODUCCIÓN

### 1.1 Uso previsto

**El ELISA EBV-EBNA-1 IgM de DEMEDITEC proporciona materiales para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos de clase IgM contra el antígeno nuclear-1 del virus de Epstein-Barr (EBV-EBNA-1) en suero o plasma humano.**

**Este ensayo está destinado únicamente a un uso diagnóstico in vitro.**

### 1.2 Resumen y explicación

El virus de Epstein-Barr (VEB) es un miembro de la familia de los herpesvirus (subgrupo Gamma, virus de ADN de 120- 200 nm) y uno de los virus humanos más comunes. El virus está presente en todo el mundo y la mayoría de las personas se infectan con el VEB en algún momento de su vida. La transmisión del virus es casi imposible de prevenir, ya que muchas personas sanas pueden ser portadoras y contagiar el virus de forma intermitente durante toda su vida. Los bebés son susceptibles de contraer el VEB en cuanto desaparece la protección de los anticuerpos maternos. La infección de los niños no suele causar síntomas. La infección durante la adolescencia o la juventud causa mononucleosis infecciosa en un 35% a 50% de los casos. La mononucleosis infecciosa casi nunca es mortal. No se conocen asociaciones entre la infección activa por el VEB y los problemas durante el embarazo, como abortos o defectos de nacimiento. Aunque los síntomas de la mononucleosis infecciosa suelen desaparecer en uno o dos meses, el VEB permanece latente en unas pocas células de la garganta y la sangre durante el resto de la vida de la persona. Periódicamente, el virus puede reactivarse y suele encontrarse en la saliva de las personas infectadas. Esta reactivación suele producirse sin síntomas de enfermedad. El VEB también establece una infección latente de por vida en algunas células del sistema inmunitario del organismo. Un acontecimiento tardío en muy pocos portadores de este virus es la aparición del linfoma de Burkitt y del carcinoma nasofaríngeo, pero el VEB no es probablemente la única causa de estas neoplasias.

## 2 PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El kit ELISA EBV-EBNA-1 IgM de DEMEDITEC es un ensayo inmunoenzimático (ELISA) en fase sólida. Las muestras de los pacientes se diluyen con el diluyente de la muestra y se incuban adicionalmente con el sorbente IgG-RF, que contiene un anticuerpo hiperinmune de clase IgG humana para eliminar la inhibición competitiva de la IgG específica y para eliminar los factores reumatoides. Este pretratamiento evita resultados falsos negativos o falsos positivos. Los pocillos de microtitulación como fase sólida se recubren con el antígeno nuclear-1 recombinante del VEB. Las muestras diluidas de los pacientes y los controles listos para su uso se pipetea en estos pocillos. Durante la incubación, los anticuerpos específicos del EBNA-1 de los especímenes y controles positivos se unen a los antígenos inmovilizados. Después de un paso de lavado para eliminar el material de muestra y de control no unido, se dispensan en los pocillos anticuerpos anti-IgM humana conjugados con peroxidasa. Durante una segunda incubación, este conjugado anti IgM se une específicamente a los anticuerpos IgM, dando lugar a la formación de complejos inmunes ligados a la enzima. Después de un segundo paso de lavado para eliminar el conjugado no unido, los complejos inmunes formados (en caso de resultados positivos) se detectan mediante la incubación con el sustrato TMB y el desarrollo de un color azul. El color azul se convierte en amarillo al detener la reacción del indicador enzimático con ácido sulfúrico. La intensidad de este color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos IgM específicos del EBNA-1 en la muestra del paciente. La absorbancia a 450 nm se lee utilizando un lector de placas de microtitulación ELISA.

### 3 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Este kit es sólo para uso de diagnóstico in vitro. Sólo para uso profesional.
2. Antes de comenzar el ensayo, lea las instrucciones completa y cuidadosamente. Utilice la versión válida del prospecto suministrado con el kit. Asegúrese de que todo se entiende.
3. Todos los reactivos de este kit de prueba que contienen suero o plasma humano han sido analizados y confirmados como negativos para el VIH I/II, el HBsAg y el VHC mediante procedimientos aprobados por la FDA. Sin embargo, todos los reactivos deben ser tratados como riesgos biológicos potenciales en su uso y para su eliminación.
4. Evitar el contacto con la solución de parada que contiene 0,2 mol/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Puede causar irritación de la piel y quemaduras.
5. El sustrato TMB tiene un efecto irritante sobre la piel y las mucosas. En caso de posible contacto, lavar los ojos con abundante volumen de agua y la piel con jabón y abundante agua. Lavar los objetos contaminados antes de reutilizarlos. En caso de inhalación, llevar a la persona al aire libre.
6. La microplaca contiene tiras a presión. Los pocillos no utilizados deben almacenarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en la bolsa de aluminio sellada y utilizarse en el marco previsto.
7. El pipeteo de las muestras y de los reactivos debe hacerse lo más rápidamente posible y en la misma secuencia para cada paso.
8. Utilice los depósitos sólo para reactivos individuales. Esto se aplica especialmente a los depósitos de sustrato. El uso de un depósito para dispensar una solución de sustrato que se haya utilizado previamente para la solución del conjugado puede colorear la solución. No vierta los reactivos en los viales, ya que puede producirse una contaminación de los mismos.
9. Mezcle bien el contenido de los pocillos de la microplaca para garantizar unos buenos resultados de la prueba. No reutilice las microplacas.
10. No deje que los pocillos se sequen durante el ensayo; añada los reactivos inmediatamente después de completar los pasos de enjuague.
11. Deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (21 °C a 26 °C) antes de iniciar el ensayo. La Temperatura afectará a las lecturas de absorbancia del ensayo. Sin embargo, los valores de las muestras de los pacientes no se verán afectados.
12. No pipetear nunca con la boca y evitar el contacto de los reactivos y las muestras con la piel y las mucosas.
13. No fume, ni coma, ni beba, ni se aplique cosméticos en las zonas donde se manipulan las muestras o los reactivos del kit.
14. Utilice guantes de látex desechables cuando manipule las muestras y los reactivos. La contaminación microbiana de los reactivos o las muestras pueden dar resultados falsos.
15. La manipulación debe realizarse de acuerdo con los procedimientos definidos por una directriz o reglamento nacional de seguridad en materia de riesgos biológicos.
16. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del kit.
17. Todos los volúmenes indicados deben realizarse de acuerdo con el protocolo. Sólo se obtienen resultados óptimos de las pruebas si se utilizan pipetas calibradas y lectores de placas de microtitulación.
18. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes números de lote. Se aconseja no intercambiar pocillos de placas diferentes incluso del mismo lote. Los kits pueden haber sido enviados o almacenados en condiciones diferentes y las características de unión de las placas pueden resultar ligeramente diferentes.
19. Los productos químicos y los reactivos preparados o utilizados deben tratarse como residuos peligrosos de acuerdo con las directrices o reglamentos nacionales de seguridad sobre riesgos biológicos.
20. Para obtener información sobre las sustancias peligrosas incluidas en el kit, consulte las hojas de datos de seguridad. Las hojas de datos de seguridad de este producto están disponibles si se solicitan directamente a Demeditec.

## 4 COMPONENTES DEL KIT

### 4.1 Contenido del kit

1. **SORB MT Micropocillos**, tiras de 12 x 8 (separadas), 96 pocillos; Pocillos recubiertos con antígeno nuclear recombinante del VEB tipo 1. (incl. 1 soporte de tiras y 1 lámina protectora).
2. **SAM DIL Diluyente de muestras\***, 1 vial, 100 mL, listo para usar, de color amarillo; pH  $7,2 \pm 0,2$ . Contiene anticuerpo anti-clase IgG humana.
3. **IgG-RF SORB IgG-RF-Sorbent \***, 1 vial, 6,5 ml; listo para usar, de color amarillo; Contiene anti-humano anticuerpo de clase IgG.
4. **CAL C Control Positivo\***, 1 vial, 1,0 mL, listo para usar; color amarillo, tapa roja.
5. **CAL A Control Negativo\***, 1 vial, 2,0 mL, listo para usar; color amarillo, tapa amarilla.
6. **CAL B Cut-off Control\***, 1 vial, 2,0 mL, listo para usar; color amarillo, tapa negra.
7. **ENZ CONJ Conjugado enzimático \***, 1 vial, 20 mL, listo para usar, coloreado en rojo, anticuerpo de IgM humana conjugado con peroxidasa de rábano picante.
8. **SUB TMB Solución de sustrato**, 1 vial, 14 mL, listo para usar, Tetrametilbencidina (TMB).
9. **STOP SOLN Solución de parada**, 1 vial, 14 mL, listo para usar, contiene 0,2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Evite el contacto con la solución de parada. Puede causar irritaciones y quemaduras en la piel.
10. **WASH SOLN 20x Solución de lavado \***, 1 vial, 30 mL (20X concentrado para 600 mL), pH  $6,5 \pm 0,1$  véase "Preparación de los reactivos".

\*contienen un conservante sin mercurio

#### 4.1.1 Equipo y material necesario pero no suministrado

- Un lector calibrado en placa de microtitulación (450/620 nm  $\pm 10$  nm)
- Micropipetas calibradas de precisión variable
- Incubadora 37 °C
- Equipos manuales o automáticos para el enjuague de los pozos
- Mezclador de tubos de vórtice
- Agua desionizada o (recién) destilada
- Temporizador
- Papel absorbente

#### 4.2 Almacenamiento y estabilidad del Kit

Cuando se almacenan entre 2 °C y 8 °C, los reactivos sin abrir conservan su reactividad hasta la fecha de caducidad. No utilice los reactivos después de esta fecha.

Los reactivos abiertos deben almacenarse entre 2 °C y 8 °C. Los pocillos de microtitulación deben almacenarse entre 2 °C y 8 °C. Una vez abierta la bolsa de aluminio, debe tenerse cuidado de volver a cerrarla bien.

Los kits abiertos conservan la actividad durante dos meses si se almacenan como se ha descrito anteriormente.

#### 4.3 Preparación de reactivos

Deje que todos los reactivos y el número necesario de tiras alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

#### Solución de lavado

Diluir la solución de lavado **1+19** (por ejemplo, 10 mL + 190 mL) con agua destilada fresca y libre de gérmenes. Esta solución de lavado diluida tiene un valor de pH de  $7,2 \pm 0,2$ .

Consumo: ~ 5 mL por determinación. Los cristales de la solución desaparecen al calentarla a 37 °C en un baño de agua. Asegúrese de que los cristales se disuelven completamente antes de su uso. La solución de lavado diluida es estable durante 4 semanas a 2 °C a 8 °C.

#### 4.4 Eliminación del kit

La eliminación del kit debe hacerse de acuerdo con la normativa nacional. La información especial para este producto se encuentra en las Hojas de Datos de Seguridad.

#### 4.5 Kits de prueba dañados

En caso de que el kit de ensayo o los componentes sufran daños graves, deberá informarse a Demeditec por escrito, a más tardar, una semana después de recibir el kit. Los componentes individuales gravemente dañados no deben utilizarse para una prueba. Deben almacenarse hasta que se encuentre una solución definitiva. Después, deben eliminarse de acuerdo con las normas oficiales.

## 5 RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

En este ensayo se puede utilizar suero o plasma (plasma con EDTA, heparina o citrato\*). (Si se utiliza plasma \*citrato, los resultados podrían ser un poco más bajos.) No utilice muestras hemolíticas, ictéricas o lipémicas.

### 5.1 Recogida de muestras

#### Suero:

Recoger la sangre por venopunción (por ejemplo, Sarstedt Monovette para el suero), dejar que coagule y separar el suero por centrifugación a temperatura ambiente. No centrifugar antes de que se haya producido la coagulación completa. Los pacientes que reciben terapia anticoagulante pueden necesitar un mayor tiempo de coagulación.

#### Plasma:

La sangre total debe recogerse en tubos de centrifuga que contengan anticoagulante (por ejemplo, Sarstedt Mono- vette con la preparación de plasma adecuada) y centrifugarse inmediatamente después de la recogida.

### 5.2 Almacenamiento y preparación de muestras

Las muestras deben estar tapadas y pueden almacenarse hasta 5 días a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C antes de su análisis. Las muestras que se conserven durante más tiempo deben congelarse una sola vez a -20 °C antes del ensayo. Las muestras descongeladas deben invertirse varias veces antes del análisis.

### 5.3 Dilución de la muestra

Antes de realizar el ensayo, cada muestra de paciente debe diluirse con el diluyente de muestras. Para la absorción del factor reumatoide, estas muestras prediluidas deben incubarse con el absorbente IgG-RF

1. Diluir cada muestra de paciente **1+50** con el Diluyente de Muestras; Por ejemplo, 10 µL de muestra + 0,5 mL de diluyente de muestra. **Mezclar bien.**
2. Mezclar bien el IgG-RF-Sorbent antes de utilizarlo.
3. Diluir esta muestra prediluida **1+1** con IgG-RF-Sorbent por ejemplo, 60 µl de muestra prediluida + 60 µl de absorbente IgG-RF. **Mezclar bien**
4. **Dejar reposar a temperatura ambiente durante al menos 15 minutos, hasta un máximo de 2 horas y volver a mezclar bien.**
5. Tome 100 µl de estas muestras pretratadas para el ELISA.

**Nota:** ¡Los controles están listos para su uso y no deben diluirse!

## 6 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

### 6.1 Observaciones generales

- **Es muy importante poner todos los reactivos, muestras y controles a temperatura ambiente antes de iniciar la prueba.**
- Una vez iniciada la prueba, todos los pasos deben completarse sin interrupción.
- Utilizar nuevas puntas de pipeta de plástico desechables para cada estándar, control o muestra con el fin de evitar la contaminación cruzada
- La absorbancia es una función del tiempo de incubación y de la temperatura. Antes de comenzar el ensayo, se recomienda que todos los reactivos estén listos, las tapas retiradas, todos los pocillos necesarios asegurados en el soporte, etc. Esto asegurará un tiempo igual para cada paso de pipeteo sin interrupción.
- Por regla general, la reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y a la temperatura.
- Cerrar bien los viales de reactivos inmediatamente después de su uso para evitar la evaporación y la contaminación microbiana.
- Para evitar la contaminación cruzada y los resultados falsamente elevados, pipetee las muestras del paciente y dispense el conjugado sin salpicar con precisión el fondo de los pocillos.
- Durante la incubación a 37°C, cubrir las tiras de microtitulación con papel de aluminio para evitar la evaporación.

## 6.2 Procedimiento de prueba

Antes de comenzar el ensayo, diluya la solución de lavado, **prepare las muestras de los pacientes como se describe en el punto 5.3** y establezca cuidadosamente **el plan de distribución e identificación** suministrado en el kit para todas las muestras y controles.

1. Seleccione el número necesario de tiras o pocillos de microtitulación e insértelos en el soporte. Por favor, asigne al menos:  
1 pozo (por ejemplo, A1) para el sustrato en blanco,  
1 pozo (por ejemplo, B1) para el Control Negativo,  
2 pozos (por ejemplo, C1+D1) para el control de corte y  
1 pozo (por ejemplo, E1) para el Control Positivo.  
Se deja al usuario determinar los controles y las muestras de los pacientes por duplicado.
2. Dispensar  
**100 µL** de Neg. Control en el pozo B1  
**100 µL** de Cut-off Control en los pozos C1 y D1  
**100 µL** de Pos. Control en el pozo E1 y  
**100 µL** de cada muestra **preliminar con nuevas puntas desechables** en los pozos apropiados.  
Deje el pozo A1 para el blanco de sustrato.
3. Cubrir los pocillos con la lámina suministrada en el kit. Incubar durante **60 minutos a 37 °C**.
4. Agitar con fuerza el contenido de los pocillos.  
Enjuagar los pocillos **5 veces** con solución de lavado diluida (**300 µl por pocillo**). Golpear fuertemente los pocillos sobre papel absorbente para eliminar las gotas residuales.  
**Nota importante:** La sensibilidad y la precisión de este ensayo están muy influenciadas por la realización correcta del procedimiento de lavado.
5. Dispensar **100 µL** de conjugado enzimático en cada pocillo, **excepto en A1**.
6. Incubar durante **30 minutos a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C)**.  
No exponer a la luz solar directa.
7. Agitar con fuerza el contenido de los pocillos.  
Enjuagar los pocillos **5 veces** con solución de lavado diluida (300 µl por pocillo). Golpear fuertemente los pocillos sobre papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
8. Añadir **100 µl** de solución de sustrato en todos los pocillos.
9. Incubar durante **15 minutos exactos a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) en la oscuridad**.
10. Detener la reacción enzimática añadiendo **100 µl** de solución de parada en cada pocillo.  
Cualquier color azul desarrollado durante la incubación se convierte en amarillo.  
**Nota:** ¡Las muestras de pacientes muy positivas pueden provocar precipitados oscuros del cromógeno!
11. Leer la densidad óptica a **450/620 nm** con un lector de placas de microtitulación **en los 30 minutos** siguientes a la adición de la solución de parada.

## 6.3 Medición

**Ajustar** a cero la microplaca ELISA o el lector de microtiras utilizando el **blanco de sustrato en el pozo A1**.

Si, por razones técnicas, el lector de ELISA no puede ajustarse a cero utilizando el blanco de sustrato en el pozo A1, reste el valor de absorbancia del pozo A1 de todos los demás valores de absorbancia medidos para obtener resultados fiables.

**Medir la absorbancia de todos los pocillos a 450 nm** y registrar los valores de absorbancia de cada muestra de control y de paciente en el plan de distribución e identificación.

Se recomienda la lectura de doble longitud de onda utilizando 620 nm como longitud de onda de referencia. Cuando sea el caso, **calcular los valores medios de absorbancia de todos los duplicados**.

## 7 RESULTADOS

### 7.1 Validación de la ejecución de la prueba

La prueba puede considerarse válida siempre que se cumplan los siguientes criterios:

<b>Blanco de sustrato en A1:</b>	Valor de absorbancia inferior a 0,100
<b>Control Negativo en B1:</b>	Valor de absorbancia inferior a 0,200
<b>Control de corte en C1/D1 :</b>	Valor de absorbancia entre 0,350 - 0,850
<b>Control positivo en E1:</b>	Valor de absorción entre 0.650 - 3.000

### 7.2 Cálculo

#### Valor medio de absorbancia del Control de corte [CO]

Calcule el valor medio de absorbancia de las dos (2) determinaciones del Control de Corte (por ejemplo, en C1/D1).

**Ejemplo:**  $(0,54 + 0,56)/2 = 0,55 = CO$

### 7.3 Interpretación

<b>POSITIVO</b>	Valores de absorbancia del paciente (media) más de un 10 % por encima del CO (media de OD del paciente $> 1,1 \times CO$ )
<b>ZONA GRIS</b>	Los valores de absorbancia de los pacientes (media) van de un 10 % por encima a un 10 % por debajo de la CO repiten la prueba 2 - 4 semanas después - con nuevas muestras de pacientes ( $0,9 \times CO \leq \text{Media de OD del paciente} \leq 1,1 \times CO$ ) Resultados en la segunda prueba de nuevo en la zona gris
<b>NEGATIVO</b>	Valores de absorbancia del paciente(media) más de un 10 % por debajo del CO (Media del paciente OD $< 0,9 \times CO$ )

#### 7.3.1 Resultados en unidades [U]

$\frac{\text{Valor de absorbancia del paciente (media)} \times 10}{CO} = [\text{Unidades} = U]$

**Ejemplo:**  $\frac{1,580 \times 10}{0,55} = 29 U$

#### Interpretación de los resultados

Valor de corte:	10 U
Zona gris:	9 - 11 U
Negativo:	< 9 U
Positivo:	> 11 U

## 8 CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar muestras de control de acuerdo con la normativa estatal y federal. Se aconseja el uso de muestras de control para asegurar la validez diaria de los resultados. Utilice controles tanto a nivel normal como patológico. También se recomienda hacer uso de programas nacionales o internacionales de evaluación de la calidad para garantizar la exactitud de los resultados. Si los resultados del ensayo no se ajustan a los rangos aceptables establecidos de los materiales de control, los resultados del paciente deben considerarse inválidos.

En este caso, compruebe las siguientes áreas técnicas: Dispositivos de pipeteo y cronometraje; fotómetro, fechas de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, métodos de aspiración y lavado.

Después de comprobar los elementos mencionados sin encontrar ningún error, póngase en contacto con su distribuidor o con DEMEDITEC directamente.



## 9 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

### 9.1 Rango dinámico del ensayo

El rango de la prueba está entre 0,69 - 60 U/mL.

### 9.2 Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del ELISA se calculó añadiendo 2 desviaciones estándar de la media de 20 análisis replicados del control negativo y resultó ser de 0,69 U/mL (DO450 = 0,027).

### 9.3 Especificidad diagnóstica

La especificidad diagnóstica se define como la probabilidad del ensayo de obtener un resultado negativo en ausencia del analito específico. (Detectado por comparación del método con DIA.PRO EBV-EBNA-1 IgM ELISA, con tres lotes de DEMEDITEC ELISA. 91 muestras, de las cuales 79 son negativas) Es del 96,34% para los tres lotes de producción de DEMEDITEC.

### 9.4 Sensibilidad diagnóstica

La sensibilidad diagnóstica se define como la probabilidad del ensayo de obtener un resultado positivo en presencia del analito específico. (Detectado por comparación del método con DIA.PRO EBV-EBNA-1 IgM ELISA, con tres lotes de DEMEDITEC ELISA. 91 muestras, de las cuales 9 son positivas) Es el 100% para los tres lotes de producción de DEMEDITEC.

### 9.5 Comparación de métodos

Se comparó el ELISA EBV (EBNA-1) IgM de DEMEDITEC con el ELISA EBV-EBNA-1 IgM de DIA.PRO. Se analizaron 91 muestras de suero.

	n= 91	DIA-PRO ELISA	
		pos.	neg.
Demeditec ELISA	pos.	9	3
	Neg.	0	97

Acuerdo: 96,70 %

### 9.6 Reproducibilidad

9.6.1 La precisión intra-ensayo (dentro de una misma serie) del Demeditec EBV-EBNA-1 IgM ELISA se determinó mediante 20 mediciones de 12 muestras de suero que cubrían todo el rango de medición.

Muestra	Media OD <sub>450</sub>	CV intra-ensayo (%)	n
1	0.30	5.67	20
2	0.21	5.96	20
3	0.08	5.61	20
4	0.85	3.17	20
5	0.93	2.94	20
6	0.67	3.20	20
7	1.21	4.13	20
8	1.15	3.26	20
9	1.47	3.11	20
10	1.86	3.50	20
11	2.31	3.99	20
12	2.02	2.17	20

9.6.2 La variación entre ensayos del Demeditec EBV-EBNA-1 IgM ELISA se determinó con 3 muestras con 2 kits de producción en 10 corridas independientes con 2 réplicas por corrida.

Muestra	Media OD <sub>450</sub>	CV inter-ensayo (%)	n
1	1.50	7.64	40
2	1.66	7.58	40
3	1.11	6.34	40

## 10 LIMITACIONES DE USO

La contaminación bacteriana o los repetidos ciclos de congelación y descongelación de la muestra pueden afectar a los valores de absorbancia. En los pacientes inmunodeprimidos y en los recién nacidos, los datos serológicos sólo tienen un valor restringido.

## 11 ASPECTOS JURÍDICOS

### 11.1 Fiabilidad de los resultados

La prueba debe realizarse exactamente según las instrucciones de uso del fabricante. Además, el usuario debe cumplir estrictamente las normas de BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio) u otras normas y/o leyes nacionales aplicables. Esto es especialmente relevante para el uso de reactivos de control. Es importante incluir siempre, dentro del procedimiento de prueba, un número suficiente de controles para validar la exactitud y precisión de la prueba. Los resultados de la prueba son válidos sólo si todos los controles están dentro de los rangos especificados y si todos los demás parámetros de la prueba están también dentro de las especificaciones del ensayo. En caso de cualquier duda o inquietud, póngase en contacto con Demeditec.

### 11.2 Consecuencias terapéuticas

Las consecuencias terapéuticas nunca basarse únicamente en los resultados del laboratorio, incluso si todos los resultados de las pruebas coinciden con los elementos indicados en el punto 11.1. Cualquier resultado de laboratorio es sólo una parte del cuadro clínico total de un paciente. El diagnóstico de una enfermedad infecciosa no debe establecerse sobre la base de un único resultado de prueba. Un diagnóstico preciso debe tener en cuenta la historia clínica, la sintomatología y los datos serológicos. Sólo en los casos en los que los resultados del laboratorio concuerden de forma aceptable con el cuadro clínico general del paciente se deben derivar consecuencias terapéuticas. El resultado de la prueba nunca debe ser el único determinante para derivar las consecuencias terapéuticas.














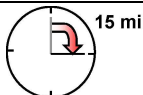


### 11.3 Responsabilidad

Cualquier modificación del kit de prueba y/o intercambio o mezcla de cualquier componente de diferentes lotes de un kit de prueba a otro podría afectar negativamente a los resultados previstos y a la validez de la prueba en general. Tales modificaciones y/o intercambios invalidan cualquier reclamación de sustitución. Las reclamaciones presentadas debido a la mala interpretación de los resultados del laboratorio por parte del cliente, según el punto 11.2., tampoco son válidas. No obstante, en caso de reclamación, la responsabilidad del fabricante no podrá superar el valor del kit de pruebas. Los daños causados al kit de pruebas durante el transporte no están sujetos a la responsabilidad del fabricante.










## 12 REFERENCIAS / BIBLIOGRAFÍA

- 1 Lamy ME., Favart AM., Cornu A. et al., "Study of Epstein-Barr virus (EBV) antibodies: IgG and IgM anti-VCA, IgG anti EA and Ig anti-EBNA obtained with an original microtiter technique. Serological criteria of primary and recurrent EBV infections and follow-up of infectious mononucleosis. Seroepidemiology of EBV in Belgium based on 5178 sera from patients". *Acta Clin. Belg.*, 37 (5): 281-298, (1982)
- 2 Lennette E., "Epstein-Barr Virus", in *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. Washington D.C., Am. Soc. Microbiol. P 728-732, (1985)
- 3 Luka J., Chase PC., Pearson GR., "A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I-Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens", *J. Immunol. Metho.*, 67: 145-156, (1984)

## SHORT INSTRUCTIONS FOR USE / BREVE MANUAL DE INSTRUCCIONES

	All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature (18 °C - 25 °C) before use.	Todos los reactivos y muestras deben dejarse a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) antes de su uso.
	Leave well A1 for substrate Blank. Dispense 100 µL of Controls into appropriate wells.	Dejar el pozo A1 para el sustrato en blanco. Dispensar 100 µl de controles en los pocillos correspondientes.
	Dispense 100 µL of sample into selected wells. <b>(Please note special sample treatment, point 5.3!)</b>	Dispensar 100 µl de muestra en los pocillos seleccionados. (Tenga en cuenta el tratamiento especial de la muestra, punto 5.3)
	Cover wells with foil. Incubate for <b>60 minutes</b> at 37 °C.	Cubrir los pozos con papel de aluminio. Incubar durante 60 minutos a 37 °C.
	Briskly shake out the contents of the wells.	Agitar con fuerza el contenido de los pocillos.
	Rinse the wells <b>5 times</b> with diluted Wash Solution (300 µL per well).	Enjuague los pocillos 5 veces con solución de lavado diluida (300 µl por pocillo).
	Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.	Golpear fuertemente los pocillos sobre papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
	Dispense 100 µL of Enzyme-Conjugate into each well.	Dispensar 100 µl de conjugado enzimático en cada pocillo.
	Incubate for <b>30 minutes</b> at room temperature.	Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
	Briskly shake out the contents of the wells.	Agitar con fuerza el contenido de los pocillos.
	Rinse the wells <b>5 times</b> with diluted Wash Solution (300 µL per well).	Enjuague los pocillos 5 veces con solución de lavado diluida (300 µl por pocillo).
	Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.	Golpear fuertemente los pocillos sobre papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
	Add 100 µL of Substrate Solution to each well.	Añadir 100 µl de solución de sustrato a cada pocillo.
	Incubate for <b>15 minutes</b> at room temperature.	Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
	Stop the reaction by adding 100 µL of Stop Solution to each well.	Detener la reacción añadiendo 100 µl de solución de parada en cada pocillo.
	Determine the absorbance of each well at 450 nm.	Determinar la absorbancia de cada pocillo a 450 nm.

## SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	utilisation Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta