

## INTENCIÓN DE USO

Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.

## RESUMEN Y APLICACIÓN

El virus de Epstein-Barr (EBV) es un virus perteneciente a la familia de los herpes, conocidos por causar mononucleosis infecciosa. La infección de EBV puede demostrarse mediante una gran variedad de síntomas clínicos. La mayoría de los contagios primarios de EBV se transmiten, mediante saliva, ocurren durante la niñez, y son sub clínicos. En los Estados Unidos, un 50% de la población produce anticuerpos EBV antes de los cinco años de edad y un 80% durante la adultez. También se han reportado infecciones de EBV relacionadas a transfusiones. El EBV también ha sido asociado con la patogénesis de dos tipos de cáncer, linfoma de Burkitt y Carcinoma del Cavum. El linfoma de Burkitt se observa principalmente en la población del África Sub Sahariana, especialmente en niños, así como en Nueva Guinea. El Carcinoma de Cavum se observa en Asia, principalmente en el Sur de China.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

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

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Pocillos revestidos con antígeno EBV-VCA	12x8x1
2. Diluyente de la muestra: 1 botella (Reactivo 1)	22 ml
3. Calibrador: 1 vial (listo para su uso)	1 ml
4. Control positivo: 1 vial (listo para su uso)	1 ml
5. Control negativo: 1 vial (listo para su uso)	1 ml
6. Conjugado enzimático: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
7. Sustrato TMB: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
8. Solución de Paro: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
9. Solución de Lavado: 1 botella (20X)	25 ml

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450nm.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en una bolsa seca con desecantes.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.
5. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit se manipulen.
6. Los componentes de este kit están destinados para su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben ser mezclados.
7. Los sueros de control y el diluyente de muestra contienen preservados con azida de sodio. La azida sódica puede reaccionar con plomo y cobre y formar azidas metálicas explosivas. Para su eliminación, lavar con un gran volumen de agua.

## RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Tomar muestras de sangre y separar el suero.
2. Por lo general, las muestras pueden ser refrigeradas 2-8°C un máximo de siete días o congelados por hasta seis meses. Evitar congelación y descongelación de la muestra de suero.

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Preparar tampón de lavado 1X mediante la adición de los contenidos de la botella (25 ml, 20x) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Conservar a temperatura ambiente (20-25°C).

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Llevar todos las muestras y reactivos a temperatura ambiente (20-25°C) y mezclar suavemente.

1. Coloque el número deseado de tiras recubiertas en el mezclador.
2. El control negativo, control positivo y calibrador están listos para usar. Preparar 1:21 dilución de muestras de ensayo, mediante la adición de 10 µl de la muestra a 200 µl de diluyente de muestra. Mezclar bien.
3. Dispensar 100 µl de suero diluido, calibrador y controles en los pocillos apropiados. Para el blanco de reactivo, agregue 100 µl diluyente de la muestra en posición bien 1A. Golpear ligeramente el soporte para eliminar las burbujas de aire del líquido y mezcle bien. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Retire el líquido de los pozos. Se lavan los pocillos tres veces con 300 µl de tampón de lavado 1X. Seque absorbancia en el papel o una toalla de papel.
5. Dispensar 100 µl de conjugado enzimático a cada pocillo e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire la enzima conjugada de todos los pozos. Se lavan los pocillos tres veces con 300 µl de tampón de lavado 1X. Seque absorbancia en el papel o una toalla de papel.
7. Dispensar 100 µl de sustrato TMB y se incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).
8. Añadir 100 µl de solución de paro.
9. Lea D.O. a 450 nm utilizando un lector de ELISA dentro de 15 min. Una doble longitud de onda se recomienda con filtro de referencia a 600-650 nm.

---

---

### **CÁLCULO DE RESULTADOS**

1. Comprobar Factor Valor del calibrador (CF) en la botella. Este valor puede variar de un lote a otro. Asegúrese de verificar el valor de cada kit.
2. Calcular el valor de corte: Calibrador OD x Factor calibrador.
3. Calcular el Ab (anticuerpo) Índice de cada determinación dividiendo la D.O. valor de cada muestra entre el valor de corte.

### **ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

1. Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.
2. Para uso en laboratorio.
3. Los materiales de potencial riesgo biológico:  
El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como de anticuerpos del VIH con reactivos con licencia FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que puede garantizar la completa seguridad de que el virus del VIH, la hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manipulados en el nivel 2 de bioseguridad, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud de Estados, "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos." 1984.
4. Los resultados óptimos se obtienen mediante la estricta adhesión al protocolo de prueba. Pipeteo preciso, así como después de la hora exacta y los requisitos de temperatura es esencial.

### **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. Las muestras lipémicas o hemolizadas pueden causar resultados erróneos.

### **REFERENCIAS**

1. Gray JJ. Avidity of EBV VCA-specific IgG antibodies: distinction between recent primary infection, past infection and reactivation. *J Virol Methods* 1995; 52(1-2):95-104.
2. Liu MT; Yeh CY. Prognostic value of anti-Epstein-Barr virus antibodies in nasopharyngeal carcinoma (NPC). *Radiat Med* 1998; 16(2):113-7.
3. Hadar T; Margalith M; Sagiv E; Sarov B; Sarov I. The significance of serum IgM IgA and IgG antibodies specific for Epstein-Barr virus as determined by immunoperoxidase assay in the rapid diagnosis of infectious mononucleosis. *Isr J Med Sci* 1995; 31(5):280-3.
4. Levine PH; Stemmermann G; Lennette ET; Hildesheim A; Shibata D; Nomura A. Elevated antibody titers to Epstein-Barr virus prior to the diagnosis of Epstein-Barr-virus-associated gastric adenocarcinoma. *Int J Cancer* 1995; 60(5):642-4.
5. Debyser Z; Reynders M; Goubau P; Desmyter J. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. *Clin Diagn Virol* 1997; 8(1):71-81.