

VIROTECH EBV IgG LINE Immunoblot

(EBV IgG LINE-32)

Nº de pedido: WE102G32

(EBV IgG LINE-96)

Nº de pedido: WE102G96

VIROTECH EBV IgM LINE Immunoblot

(EBV IgM LINE-32)

Nº de pedido: WE102M32

(EBV IgM LINE-96)

Nº de pedido: WE102M96

SÓLO PARA EL DIAGNÓSTICO IN VITRO



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Alemania

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

Correo electrónico: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

Sitio web: clinical.goldstandarddiagnostics.com



Índice

1. Finalidad.....	3
2. Principio de la prueba.....	3
3. Contenido.....	3
3.1 Kit para 32 determinaciones	3
3.2 Kit para 96 determinaciones	3
4. Conservación y caducidad del kit y de los reactivos	4
5. Medidas de precaución y advertencias.....	4
6. Material adicional necesario (no suministrado)	4
7. Material de muestras.....	5
8. Realización de la prueba	5
8.1 Preparación de las muestras	5
8.2 Preparación de los reactivos.....	5
8.3 Realización de la prueba de Immunoblot LINE.....	5
8.4 Empleo de procesadores	6
9. Valoración del ensayo	6
9.1 Evaluación de las muestras de paciente.....	7
9.2 Empleo del control de Cut off.....	7
9.3 Significado de los antígenos	7
9.4 Criterios de evaluación.....	8
9.5 Limitaciones del ensayo.....	9
10. Bibliografía.....	9
11. Esquema de la realización de la prueba	10

1. Finalidad

Kit de ensayo por inmunotransferencia de LINE para la determinación cualitativa del virus Epstein Barr (EBV) en suero humano de anticuerpos IgG o IgM específicos.

El kit puede utilizarse en diagnósticos avanzados de EBV para diferenciar o confirmar la seronegatividad, la infección primaria y la infección pasada.

2. Principio de la prueba

Las proteínas del antígeno patógeno son transmitidas mediante un procedimiento de rociado específico a una membrana de nitrocelulosa. A continuación, la membrana de nitrocelulosa se corta en tiras individuales.

La incubación de las tiras de nitrocelulosa portadoras de antígeno con muestras de suero/plasma humano permite la identificación de los anticuerpos específicos existentes. Estos anticuerpos forman complejos inmunitarios con los antígenos fijados en las tiras de prueba. Una vez eliminados los anticuerpos no ligados mediante pasos de lavado, las tiras de nitrocelulosa se incuban con anticuerpos IgG o IgM antihumanos conjugados con fosfatasa alcalina. Después de eliminar los anticuerpos conjugados no ligados mediante un paso de lavado adicional tiene lugar la visualización de los complejos antígeno-anticuerpo (de los anticuerpos ligados) mediante la adición de un sustrato incoloro que, al reaccionar con las enzimas, genera bandas azul-violeta ("bandas de antígeno"). La reacción enzima-sustrato se interrumpe lavando las tiras de nitrocelulosa con agua destilada o desionizada. En función de los patrones de bandas observados puede determinarse la presencia de anticuerpos IgG o IgM específicos.

3. Contenido

3.1 Kit para 32 determinaciones

1. Tiras de prueba de IgG / IgM nitrocelulosa con antígenos pulverizados sobre las mismas, reforzadas con lámina de plástico, clasificadas en cuadernillos, listas para usar	1x	32 tiras
2. Control de Cut off IgG / IgM suero humano, prediluido	1x	1,0 ml
3. Tampón de dilución/lavado , pH 7,3 (conc. 10x), con conservante y Tris	2x	50 ml
4. Conjugado IgG (concentración 100x) antihumano, (caprino)-fosfatasa alcalina, con conservante	1x	0,7 ml
5. Sustrato (BCIP/NBT), listo para usar	1x	57 ml
6. Hoja de protocolo de valoración , para protocolizar y archivar los resultados	1x	1 unidad

3.2 Kit para 96 determinaciones

1. Tiras de prueba de IgG / IgM nitrocelulosa con antígenos pulverizados sobre las mismas, reforzadas con lámina de plástico, clasificadas en cuadernillos, listas para usar	3x	32 tiras
2. Control de Cut off IgG / IgM suero humano, prediluido	2x	1,0 ml
3. Tampón de dilución/lavado , pH 7,3 (conc. 10x), con conservante y Tris	4x	50 ml
4. Conjugado IgG (concentración 100x) antihumano, (caprino)-fosfatasa alcalina, con conservante	3x	0,7 ml
5. Sustrato (BCIP/NBT), listo para usar	3x	57 ml
6. Hoja de protocolo de valoración , para protocolizar y archivar los resultados	3x	1 unidad

Bajo demanda puede suministrarse adicionalmente:

IgG o IgM-Control positivo, suero humano, prediluido, 0,5 ml.

Las bandas positivas > bandas Cut off se indican en el certificado suministrado.

(Nº de pedido IgG: WE102P60 o IgM: WE102P80)

IgG o IgM-Control negativo, suero humano, prediluido, 0,5 ml.

El control negativo no muestra ninguna banda o bien ninguna banda relevante para la evaluación > banda de Cut off.

(Nº de pedido IgG/IgM: WE102N10)

4. Conservación y caducidad del kit y de los reactivos

Conserve el kit de ensayo a 2-8°C. El plazo de caducidad de cada componente figura en la correspondiente etiqueta; el plazo de caducidad del kit puede consultarse en el Certificado de Control de Calidad.

1. No congele los reactivos ni los exponga a temperaturas elevadas.
2. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
3. Evite conservar los reactivos en un lugar expuesto a luz intensa.
4. La solución de sustrato BCIP/NBT es fotosensible y debe conservarse en un lugar oscuro.
5. **Tiras de prueba de nitrocelulosa:** Utilice las tiras inmediatamente después de sacarlas de la bolsa. Vuelva a cerrar bien la bolsa con las tiras que no necesite y consérvela a 2-8°C. Para archivar los resultados, es imprescindible proteger las tiras de prueba de nitrocelulosa contra la incidencia directa de la luz solar, para evitar una descoloración de las bandas.

Material	Estado	Almacenamiento	Estabilidad
Muestras de análisis	sin diluir	de +2 hasta +8°C	1 semana
Tiras de análisis	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (almacenamiento en la bolsa suministrada)	3 meses
Controles	tras la apertura	de +2 hasta +8°C	3 meses
Conjugado	tras la apertura	de +2 hasta +8°C	3 meses
	diluido	de +2 hasta +8°C	aprox. 6h
Sustrato	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (protegido contra la luz)	3 meses
Solución de lavado	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (protegida contra la luz)	3 meses
	dilución final (lista para el uso)	de +2 hasta +8°C	4 semanas
	dilución final (lista para el uso)	o a temperatura ambiente	2 semanas

5. Medidas de precaución y advertencias

1. Como sueros de control sólo deben utilizarse sueros que hayan dado resultado negativo en las pruebas de anticuerpos VIH1, anticuerpos VIH2, anticuerpos VHC y antígeno de superficie de la hepatitis B. En cualquier caso, todos los sueros de control, muestras, muestras diluidas, conjugados y tiras de prueba de nitrocelulosa deben considerarse como material potencialmente infeccioso y manipularse con las correspondientes precauciones. Deberán seguirse las correspondientes directrices para trabajos de laboratorio.
2. Al realizar la inmunotransferencia deben utilizarse guantes desechables y pinzas de plástico.
3. Los materiales utilizados deberán eliminarse según la normativa de eliminación de residuos de cada país.
4. Las cubetas de incubación han sido diseñadas por el fabricante exclusivamente para un único uso. Si las cubetas de incubación se emplean más de una vez, la responsabilidad recae sobre el usuario. En caso de que se decida emplear las cubetas más de una vez, recomendamos que después de su uso se desinfecten durante varias horas en una solución de hipoclorito sódico al 1%, se limpien y se enjuaguen a fondo con agua corriente y posteriormente con agua destilada o desionizada.

6. Material adicional necesario (no suministrado)

1. Cubeta de incubación (disponible con el nº de pedido WE300.08)
2. Agitador (vertical, no centrífugo)
3. Frasco lavador para interrumpir la reacción
4. Pipeta o lavador manual
5. Micropipetas de 5 µl - 1500 µl
6. Puntas de pipeta
7. Tubos de ensayo, volumen 2-20 ml
8. Pinzas de plástico

9. Agua destilada o desionizada
10. Papel de filtro

7. Material de muestras

Como material de análisis se pueden utilizar suero o plasma (sin importar el tipo de anticoagulantes), aunque en el folleto sólo se mencione el suero.

8. Realización de la prueba

Para obtener resultados correctos es imprescindible respetar exactamente las instrucciones de trabajo.

8.1 Preparación de las muestras

1. Para cada muestra de paciente son necesarios 15 µl de suero o de plasma.
2. Las muestras de sangre se deben extraer por punción venosa bajo condiciones asépticas. Tras la coagulación completa se debe separar el suero (no procede para el plasma). Para un almacenamiento más prolongado, los sueros deben congelarse a -20°C.
3. Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas de los sueros.
4. Los sueros térmicamente inactivados o que presenten lipemia, hemólisis o contaminación microbiana pueden llevar a resultados incorrectos, por lo que no deben utilizarse.
5. No utilice muestras de suero turbias (especialmente después de la descongelación); en caso necesario, centrifúguelas (5 min a 1000 x g), pipetee el sobrenadante transparente y utilícelo para la prueba.

8.2 Preparación de los reactivos

1. Para la adaptación a la rutina de laboratorio se pueden utilizar todos los LINEs en un ciclo de prueba (con tiempos de incubación idénticos y parámetros y lotes de componentes similares). Los controles de Cut off se realizan de forma específica para los parámetros y lotes.
2. Antes de diluir todos los reactivos de ensayo, el correspondiente reactivo concentrado debe llevarse a temperatura ambiente. Sólo debe utilizarse agua destilada o desionizada de alta calidad y a temperatura ambiente.
3. Antes de iniciar el ensayo, las diluciones deben mezclarse bien.

4. Tampón de dilución/lavado

El tampón de dilución/lavado se suministra en una concentración de 10x. Diluya el concentrado de tampón de dilución/lavado al 1:10 con agua destilada o desionizada (10ml/50ml/100ml de concentrado + 90ml/450ml/900ml a. dest./desionizada) y mézclelo bien.

Tanto el tampón de dilución/de lavado concentrado como el diluido pueden presentar una coloración amarilla. Esta coloración amarilla no afecta a la estabilidad del tampón de dilución/de lavado ni a la funcionalidad y capacidad diagnóstica de la preparación de ensayo.

5. Conjugado IgG / IgM

Diluya el conjugado (1+100) con tampón para dilución/lavado ya diluido y mezcle bien. Por cada muestra de suero se necesitan 1,5 ml de solución de conjugado lista para usar. Consulte la tabla de dilución del conjugado (apartado "Esquema de la realización de la prueba").

6. Solución de sustrato

La solución de sustrato se suministra lista para usar. Immunoblot Testdurchführung

8.3 Realización de la prueba de Immunoblot LINE

¡Cuidado! Las tiras de prueba de nitrocelulosa sólo pueden ser probadas en la clase aprobada de Ig (ver la etiqueta en el cuadernillo de tiras y el nombre en cada tira de prueba).

Para el correcto funcionamiento y evaluación de la EBV LINE, se debe incluir en cada procedimiento de prueba un control de Cut off específico para el parámetro y del lote.

Para un diagnóstico seguro de EBV debe realizarse la prueba LINE para IgG e IgM.

1. La prueba se realiza a temperatura ambiente.

2. Por cada prueba, coloque 1 tira en la ranura de una cubeta de incubación limpia. En la medida de lo posible, la tira sólo debe sujetarse por el extremo superior marcado.
3. Pipetee en cada tira 1,5 ml de **tampón de dilución/lavado** listo para usar y colóquela en el agitador. Asegúrese de que las tiras de prueba de nitrocelulosa estén uniformemente cubiertas de líquido: no debe secarse en ningún momento del ensayo.
4. Las tiras de prueba de nitrocelulosa reforzadas están totalmente humedecidas al cabo de un minuto, y pueden incubarse hacia arriba, hacia abajo o de lado.
5. Agregar cada vez **15µl de suero/plasma de paciente o 100µl del control de Cut off / positivo / negativo**, en lo posible en el extremo superior y marcado de la banda Incube el suero de paciente y el control durante **30 minutos** en el agitador. Incube el suero de paciente y el control durante **30 minutos** en el agitador. Durante el pipeteado y el posterior vertido debe prestarse atención a evitar contaminaciones cruzadas entre las distintas muestras de paciente.
6. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo cuidadosamente. El verter el líquido, las tiras de prueba de nitrocelulosa permanecen adheridas al suelo de las ranuras. Seque el líquido residual con papel absorbente.
7. **Lave** las tiras: incúbelas **3 veces durante 5 minutos** en el agitador con 1,5 ml de tampón de dilución/lavado listo para usar por cada vez. Aspire o vierta siempre el tampón de lavado en su totalidad. Antes de realizar el último paso de lavado, prepare la cantidad necesaria de conjugado diluido fresco (véase tabla).
8. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo (véase el punto 6).
9. Pipetee 1,5 ml del **conjugado diluido** preparado en cada ranura de incubación e incube durante **30 minutos** en el agitador.
10. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo.
11. **Lave** las tiras: incúbelas **3 veces durante 5 minutos** en el agitador con 1,5 ml de tampón de dilución/lavado listo para usar por cada vez. Aspire o vierta siempre el tampón de lavado en su totalidad. A continuación, lávelas **1 vez durante 1 minuto** con **agua destilada/desionizada**.
12. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo (véase el punto 6).
13. Pipetee 1,5 ml de **solución de sustrato** lista para usar en cada ranura y revele las tiras durante **10 ± 3 minutos** en el agitador.
14. **Interrumpa** el revelado del color vertiendo la solución de sustrato. A continuación, lave **3 veces** las tiras sin incubación intermedia con 1,5 ml de **agua destilada/desionizada** cada vez.
15. Vierta el agua destilada/desionizada y seque las tiras sobre un papel absorbente limpio. La coloración de fondo que puede observarse en las tiras de prueba de nitrocelulosa húmedas desaparece por completo al secarse. En comparación con las tiras de prueba de nitrocelulosa normales, las tiras de prueba de nitrocelulosa reforzadas tardan algo más en secarse.
16. Utilice el protocolo de valoración adjunto para la evaluación. Las indicaciones que figuran en las bandas altamente específicas en la hoja de protocolo facilitan la evaluación de las muestras de paciente.

Véase esquema de la realización de la prueba en la última página

8.4 Empleo de procesadores

Para el procesamiento automatizado de los Blot y de las LINE se han validado los equipos siguientes: Apollo y Profiblot. Por principio son adecuados todos los equipos automáticos para Blot de tipo usual en el comercio.

9. Valoración del ensayo

Para la valoración segura, cada tira LINE está equipada con dos controles:

1. **Control de suero** (= serum control):

La marca de incubación con suero debajo de la línea de marca (= markline) sólo aparece después de incubar la tira con suero de paciente.

2. **Control de conjugado** (= conjugate control):

La tira LINE está dotada de una banda de control de conjugado que aparece después de la incubación con el correspondiente conjugado.

La prueba realizada es válida si, una vez revelada, en la tira de prueba de nitrocelulosa aparecen claramente tanto la banda de control de suero como la de control interno de conjugado.

La posición de las bandas de control de suero y de conjugado se indican en la hoja de protocolo.

9.1 Evaluación de las muestras de paciente

La posición y denominación de las bandas reactivas se indican en la hoja de protocolo.

Bandas IgM: gp125, p18, EA-D

Bandas IgG: EBNA1, gp125, p18, EA-D

9.2 Empleo del control de Cut off

Las bandas cuya intensidad es más débil que la banda de corte (P1) del control de Cut off no se incluyen en la evaluación.

<u>Bandas IgG de Cut off:</u>	1. p18 para evaluación:	gp125-, p18- y EA-D Banda EBNA1 Banda, con serología IgM positiva
	2. EBNA1 para evaluación:	EBNA1 Banda, con serología IgM negativa
<u>Bandas IgM de Cut off:</u>	p18 para evaluación:	gp125-, p18- y EA-D Banda

9.3 Significado de los antígenos

Auflistung der verwendeten synthetischen Antigen-Peptide (EBNA1, p18, EA-D) sowie des affinitätsgereinigten gp125 Antigens des Epstein Barr Virus-Antigens.

antígeno denominación	Importancia de los antígenos	Especificidad de los anticuerpos en el LÍNE
EBNA1	Antígeno nuclear Epstein-Barr, una proteína viral que se expresa en el núcleo de las células latentemente infectadas. Los anticuerpos IgG contra el EBNA1 se consideran marcadores seguros para una infección de EBV vencida. En raros casos excepcionales, la respuesta inmune de las IgG contra el EBNA1 (primario o secundario) puede estar ausente. En pacientes inmunocomprometidos, los títulos de anticuerpos IgG contra el EBNA1 pueden caer bruscamente (pérdida secundaria de EBNA1).	IgG: Marcador central altamente específico para una infección de EBV caducada
VCA-gp125	Se han descrito varios "antígenos de la cápside viral". Las proteínas gp125 y p18 se consideran inmunodominantes. Los anticuerpos IgM contra el VCA gp125/p18 suelen desaparecer de nuevo unas semanas después de la infección, mientras que los anticuerpos IgG contra el VCA gp125/p18 permanecen de por vida. En caso de reactivación, los anticuerpos IgM contra VCA-gp125/p18 se forman de nuevo ocasionalmente.	IgG-gp125: marcador general muy específico para las infecciones de EBV IgM: muy específico para una infección primaria de EBV
VCA-p18	Ver también las explicaciones en "Significado" para VCA-gp125. En la serología de IgM, el péptido p18 es un marcador altamente específico para las infecciones primarias. En las infecciones primarias, se suele encontrar primero una clara respuesta de anticuerpos IgM anti-p18, seguida de un aumento de los anticuerpos IgG anti-p18. Este aumento de IgG alcanza su máximo cuando los títulos de IgM caen y una respuesta inmune de IgG contra EBNA1.	IgG-p18: marcador muy específico para el contacto con el EBV en etapas avanzadas IgM: muy específico para una infección primaria de EBV
EA-D	El "Early Antigen-Diffuse" es uno de los primeros antígenos sintetizados en el ciclo de replicación viral (fase activa de la infección). Los anticuerpos IgG e IgM contra el EA-D se producen, con EBNA IgG simultáneamente negativo, típicamente en las infecciones primarias. Durante la convalecencia, los anticuerpos IgG contra el EA-D caen, pero pueden volver a subir bruscamente durante las reactivaciones del EBV. Sin embargo, este aumento de anticuerpos no da ninguna indicación de la relevancia clínica de la reactivación del EBV.	IgG: 1.) específico para las infecciones primarias de EBV 2.) marcador serológico para la reactivación del EBV IgM: específico para las infecciones primarias de EBV

9.4 Criterios de evaluación

La interpretación de los resultados serológicos siempre debe tener en cuenta el cuadro clínico, los datos epidemiológicos así como otros hallazgos disponibles de laboratorio

Evaluación recomendada de IgM

Banda(s)	Bewertung	Interpretación
No Banda o Banda(s) < Banda de Cut off	negativo	No se detectan anticuerpos IgM contra antígenos EBV
gp125 ≥ Banda de Cut off (p18)	positivo	Indicación de una infección primaria, especialmente en ausencia de una respuesta inmune IgG contra el EBNA1 (véase también la evaluación de IgG para el EBNA1)
p18 ≥ Banda de Cut off (p18)	positivo	Indicación de una infección primaria, especialmente en ausencia de una respuesta inmune IgG contra el EBNA1 (véase también la evaluación de IgG para el EBNA1)
EA-D reactivo aislado ≥ Banda de Cut off (p18)	negativo	Los anticuerpos IgM contra EA-D se forman a menudo durante las infecciones primarias, pero siempre se producen junto con los anticuerpos IgM contra p18 y/o gp125 y por lo tanto no se consideran en la evaluación.

Con una evaluación negativa de IgM se recomienda una evaluación de IgG

Evaluación de IgM	Banda(s) que aparece(n) en IgG ≥ Banda de Cut off				Evaluación de IgG	Texto de ejemplo diagnóstico
	EBNA1 ≥ EBNA1 Banda de Cut off	gp125 ≥ p18 Banda de Cut off	p18 ≥ p18 Banda de Cut off	EA-D ≥ p18 Banda de Cut off		
Negativo	neg.	neg.	neg.	neg.	Negativo	No se detecta ningún anticuerpo contra el antígeno del EBV.
	pos.	neg./pos.	neg./pos.	neg./pos.	Positivo	Evidencia de una infección de EBV caducada
	neg.	pos.	pos.	neg./pos.	Positivo	Evidencia de una infección de EBV caducada.
	neg.	pos.	neg.	neg.	Positivo	Referencia a un contacto con EBV. No es posible diferenciar entre las infecciones primarias y las caducadas. Se recomienda el control.
	neg.	neg.	pos.	neg.	Positivo	Evidencia de una infección de EBV caducada. Se recomienda el control.
	neg.	neg.	neg.	pos.	Positivo	Referencia a un contacto con EBV. Se recomienda el control.
	neg.	pos.	neg.	pos.	Positivo	Sospecha de una infección primaria de EBV. Se recomienda encarecidamente el control.
	neg.	neg.	pos.	pos.	Positivo	Referencia a un contacto con EBV. La infección primaria y vencida no es posible. Se recomienda el control.

Con una evaluación positiva de IgM se recomienda una evaluación de IgG

Evaluación de IgM	Banda(s) que aparece(n) en IgG ≥ Banda de Cut off				Evaluación de IgG	Texto de ejemplo diagnóstico
	EBNA1	gp125	p18	EA-D		
Positivo	neg.	neg.	neg.	neg.	Negativo	Indicación de una infección primaria.
	pos.	neg./pos.	neg./pos.	neg./pos.	Positivo	Indicación de una infección de EBV caducada.
	neg.	pos.	neg./pos.	neg./pos.	Positivo	Indicación de una infección primaria.
	neg.	neg./pos.	pos.	neg./pos.	Positivo	Indicación de una infección primaria.
	neg.	neg./pos.	neg./pos.	pos.	Positivo	Indicación de una infección primaria.

9.5 Limitaciones del ensayo

1. Un resultado negativo de la inmunotransferencia no permite descartar por completo la posibilidad de una infección por EBV.
2. En casos poco frecuentes, los sueros de pacientes pueden presentar bandas "invertidas" (fondo oscuro, bandas blancas); si ocurre esto no es posible evaluar la prueba. En ese caso, el suero debe analizarse mediante otros métodos serológicos.
3. La serología del EBV por sí sola no permite una declaración fiable sobre la relevancia clínica de la reactivación (9).
4. Un anti-EBNA1 negativo no es necesariamente un indicio de una infección primaria. Los pacientes inmunocomprometidos pueden tener una pérdida secundaria de anti-EBNA1 y el 5% de los pacientes infectados por el EBV (los que no responden al EBNA1) no desarrollan anti-EBNA1 (7).
5. Un resultado negativo de VCA IgM no excluye la posibilidad de una infección primaria, ya que en algunos casos de infección aguda no se forma VCA IgM (IgM no respondedor) (7).
6. Los anticuerpos transferidos pasivamente poco antes del examen pueden influir en los resultados de la serología del EBV. Esto se aplica, por ejemplo, a las transfusiones de sangre o a los anticuerpos maternos transferidos al bebé.

10. Bibliografía

1. Evans, A.S., J.C. Niedermann, L.C. Cenabre, B. West and V.A. Richards. (1975). A prospective evaluation of heterophile and EBV specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis. *J. Infect. Dis.* 132:546-554.
2. Nikoskelainen, J., J. Leikola and E. Klemola. (1974). IgM antibodies specific for EBV in IM without heterophile antibodies. *Br. Med. J.* Oct 12.4(5936)72-5.
3. Klemola, E., R. von Essen, G. Henle and W. Henle. (1970). Infectious-mononucleosis-like disease with negative heterophil agglutination test. Clinical features in relation to Epstein-Barr virus and cytomegalovirus antibodies. *J. Infect. Dis.* Jun :121(6) :608-614.
4. Sumaya, C.V. and Y. Ench. (1985). Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children. II. Heterophil antibody and viral-specific responses. *Pediatrics* Jun: 75(6)1011-9.
5. Schmitz, H., D. Volz, C. Krainick-Riechert and M. Schere. (1972). Acute Epstein-Barr virus infections in children. *Med Microbiol Immunol.* 158(1):58-63.
6. Inoue, N. et al. (1992). Use of enzyme-linked immunosorbent assays with chimeric fusion proteins to titrate antibodies against Epstein-Barr virus nuclear antigen 1. *J Clin Microbiol.* Jun;30(6):1442-8.
7. Bauer, G. (2001). Simplicity through complexity: immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology. *Clin Lab.* 47(5-6):223-30.
8. Modrow, S. und D. Falke (2010). Das Epstein-Barr Virus. S. 572-577. In: *Molekulare Virologie*, Spektrum Verlag, ISBN: 978-3-8274-1833-3.
9. Gärtner BC et al. (2000). No correlation in Epstein-Barr virus reactivation between serological parameters and viral load. *J Clin Microbiol.* Jun;38(6): 2458

11. Esquema de la realización de la prueba

Resumen de la realización de la prueba:

Incubación de muestras	30 minutos	15 µl de suero/plasma del paciente/100 µl de control en cada caso en 1,5 ml de tampón de dilución/lavado
Lavado	3 x 5 minutos	con 1,5 ml de tampón para dilución/lavado en cada caso
Incubación de los conjugados	30 minutos	con 1,5 ml de dilución para el uso (1 + 100)
Lavado	3 x 5 minutos	con 1,5 ml de tampón para dilución/lavado en cada caso
	1 x 1 minuto	con agua destilada/desionizada
Incubación del sustrato	10 ± 3 minutos	con 1,5 ml de solución de sustrato en cada caso
Parada	3 x sin incubación intermedia	con 1,5 ml de agua destilada/desionizada en cada caso

Tabla para dilución de conjugado: (valores redondeados)

Número de tiras	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tampón de dilución/lavado	1,5ml	3,0ml	4,5ml	6,0ml	7,5ml	9,0ml	11,0ml	12,0ml	14,0ml	15,0ml
Conjugado concentrado	15µl	30µl	45µl	60µl	75µl	90µl	110µl	120µl	140µl	150µl
Volumen final	1,515ml	3,03ml	4,545ml	6,06ml	7,575ml	9,09ml	11,11ml	12,12ml	14,14ml	15,15ml

Número de tiras	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Tampón de dilución/lavado	17,0ml	18,0ml	20,0ml	21,0ml	23,0ml	24,0ml	26,0ml	27,0ml	29,0ml	30,0ml
Conjugado concentrado	170µl	180µl	200µl	210µl	230µl	240µl	260µl	270µl	290µl	300µl
Volumen final	17,17ml	18,18ml	20,2ml	21,21ml	23,23ml	24,24ml	26,26ml	27,27ml	29,29ml	30,3ml

Número de tiras	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Tampón de dilución/lavado	32,0ml	33,0ml	35,0ml	36,0ml	38,0ml	39,0ml	41,0ml	42,0ml	44,0ml	45,0ml
Conjugado concentrado	320µl	330µl	350µl	360µl	380µl	390µl	410µl	420µl	440µl	450µl
Volumen final	32,32ml	33,33ml	35,35ml	36,36ml	38,38ml	39,39ml	41,41ml	42,42ml	44,44ml	45,45ml

Número de tiras	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Tampón de dilución/lavado	47,0ml	48,0ml	50,0ml	51,0ml	53,0ml	54,0ml	56,0ml	57,0ml	59,0ml	60,0ml
Conjugado concentrado	470µl	480µl	500µl	510µl	530µl	540µl	560µl	570µl	590µl	600µl
Volumen final	47,47ml	48,48ml	50,5ml	51,51ml	53,53ml	54,54ml	56,56ml	57,57ml	59,59ml	60,6ml