

VIRAPID® MONO M&G

Für die *In vitro* diagnostik

VR001: Immunochromatographie-Test für die qualitative Bestimmung der Marker für den Epstein-Barr-Virus (EBV) in humanem Serum/Citrat-Plasma. 25 Tests.

EINLEITUNG:

VIRAPID® MONO M&G stellt einen Immunoassay für die qualitative Bestimmung von vier serologischen Markern für den Epstein-Bar-Virus (EBV), zwei vom Typ IgM, VCA und heterophile, und zwei vom Typ IgG dar, VCA und EBNA. Dieser Test dient für professionelle Zwecke und unterstützt die Diagnose der infektiösen Mononukleose in Serum- und Citrat-Plasmaproben.

Der Epstein-Barr-Virus (EBV) gehört zur Familie der Herpesviren und stellt einen der häufigsten im Menschen vorkommenden Viren dar. Der Virus ist überall in der Welt vorhanden, und man schätzt, dass 95% der Erwachsenen zwischen 35 und 40 Jahren einmal in ihrem Leben damit infiziert waren. Die vom Epstein-Barr-Virus (EBV) am häufigsten verursachte Krankheit ist die infektiöse Mononukleose, die zu Fieber, Adenopathien, Splenomegalie und Pharyngitis führen kann. Manche Fälle können durch Zytomegalie-Virus, *Toxoplasma gondii*, Adenovirus usw. verursacht werden. EBV führt zudem bei immunsupprimierten Patienten zu proliferativen Syndromen und die Infektion durch EBV wird mit der Pathogenese des Burkitt-Lymphoms und des Nasopharynxkarzinoms assoziiert. Zur Bestimmung des Epstein-Barr-Virus können die Antikörper gegen verschiedene Antigenkomplexe gemessen werden. Dies sind: Kapsidantigen (VCA), Frühantigen (EA) und Nuklearantigen (EBNA).

Das Vorhandensein von IgM Antikörpern gegen VCA und das Fehlen von EBNA Antikörpern zeigen eine Primärinfektion mit EBV an. Steigende oder hohe Konzentrationen an IgG Antikörpern gegen VCA und das Fehlen einer Immunantwort gegen EBNA nach wenigstens vier Wochen Krankheit deuten ebenfalls auf eine Primärinfektion mit EBV hin. Außerdem produzieren 80% der Patienten mit einer aktiven EBV-Infektion Antikörper gegen EA. Das gleichzeitige Vorhandensein von Antikörpern gegen VCA und EBNA zeigt eine vergangene Infektion an (4-6 Monate oder sogar Jahre vorher). Da 95% der Erwachsenen früher Kontakt mit EBV gehabt haben, weist die Mehrheit der Erwachsenen Antikörper als Signal für vergangene Infektionen auf. Hohe Konzentrationen an Antikörpern können jahrelang vorliegen und deuten nicht notwendigerweise auf eine kürzliche Infektion hin.

Es ist beschrieben worden, dass in den Seren von Patienten mit infektiöser Mononukleose Antikörper gegen die Erythrozyten anderer Tierspezies auftreten, die heterophile Antikörper genannt werden. Die Proteine, die für die Agglutination verantwortlich sind, sind Glykoproteine, die aus Erythrozytenmembranen stammen und Paul-Bunnell-Antigene genannt werden. Diese Antikörper bilden sich bei 80 bis 85% der erwachsenen und jugendlichen Patienten aus und erreichen im ersten Monat der Infektion hohe Werte, und ihre Bestimmung ist von großem diagnostischen Wert.

PRINZIP DES TESTS:

Wenn man die Probe zusammen mit der Entwicklerlösung (VIRCELL DEVELOPER SOLUTION) in jede der Mikrotiterplatten

mit doppelter Kassette gibt, löst sich das koloidale Gold und bewirkt eine erste immunologische Reaktion zwischen den spezifischen Antikörpern des Serums/Citrat-Plasmas mit dem Protein, das die Goldpartikel trägt.

In Teil M gibt es zwei Konjugate, eines mit Paul-Bunnell-Antigen (aus gereinigten Rinder-Erythrozyten) und eines mit EBV p18. Diese Proteine erkennen entsprechend die heterophilen Paul-Bunnell-Antikörper (PB HA) bzw. die Antikörper gegen EBV-Kapsid. In Teil G gibt es nur ein Konjugat, das aus einem sekundären Antikörper, anti-humanem IgG, gewonnen wird.

Nach der ersten Reaktion wandern die Komplexe durch die Membran bis zu den entsprechenden Reaktionslinien (Testlinien). In Test M entspricht die erste Linie den Antikörpern VCA-IgM und enthält anti-humane IgM.

Die zweite Testlinie entspricht wieder dem Paul-Bunnell-Antigen. In Teil G entsprechen die beiden Linien jeweils EBV p18 bzw. EBNA.

Jeder Teststreifen enthält eine Kontrolllinie, deren Aufgabe darin besteht, den Test zu validieren. Diese muss immer auftreten, auch wenn die Probe negativ ist. Sowohl in Teil M als auch in Teil G besteht die Kontrolllinie aus einem sekundären Antikörper gegen eines der Proteine des Konjugats.

EIGENSCHAFTEN DES KITS:

Der VIRAPID® MONO M&G Testsatz bestimmt in einem einzigen Test die vier wichtigsten serologischen Marker, die für die Diagnose der durch EBV verursachten infektiösen Mononukleose verwendet werden. Der Test wird in wenigen Minuten mit Hilfe einer Mikropipette und eines Chronometers durchgeführt, und kann visuell abgelesen werden.

Wir empfehlen Ihnen, aufmerksam den Abschnitt „Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen“ durchzulesen.

BESTANDTEILE DES KITS:

- 1 VIRCELL MONO M&G CASSETTE: 25 Kassetten für die spezifische Detektion der Marker für den Epstein-Barr-Virus (EBV).
- 2 VIRCELL MONO M&G DEVELOPER SOLUTION: 4 ml Pufferlösung. Enthält Natriumazid.

Bei 2-30°C lagern, Verfallsdatum überprüfen

Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht im Kit enthalten:

Mikropipetten und entsprechende Spitzen
Chronometer

LAGERBEDINGUNGEN:

Bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank bei 2 bis 30°C aufbewahren.

NICHT EINFRIEREN.

Verwenden Sie die Komponenten des Kits nicht mehr nach Ablauf des Verfallsdatums. Das angegebene Verfallsdatum gilt nur dann, wenn die Komponenten geschlossen bei 2 bis 30°C gelagert werden.



LAGERUNG DER ANGEBROCHENEN REAGENZIEN:

Reagenz	Stabilität und Lagerung
VIRCELL CASSETTE	Nach dem Öffnen innerhalb von einer Stunde benutzen.
Restliche Komponenten	Bei 2-30°C lagern und vor Ablauf des Verfallsdatums verwenden

STABILITÄT UND HANDHABUNG DER REAGENZIEN:

Das Kit ist bis zum Ablauf des Verfallsdatums stabil bei 2-30°C. Verwenden Sie alle Reagenzien unter aseptischen Bedingungen, um eine Kontaminierung durch Mikroben zu verhindern.

VIRCELL, S.L. haftet nicht für die unsachgemäße Verwendung der im Kit enthaltenen Reagenzien.

EMPFEHLUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN:

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.
2. Nur Kit-Bestandteile verwenden. VIRCELL CASSETTES und VIRCELL DEVELOPER SOLUTION verschiedener Chargen oder Kits nicht untereinander austauschen.
3. Die Proben müssen so behandelt werden, als wären sie infektiös, gemäß den Sicherheitsverfahren in Laboratorien.
4. Verwenden Sie Einmal-Schutzhandschuhe, einen Laborkittel und eine Schutzbrille, wenn Sie die Proben handhaben. Waschen Sie sich nach der Handhabung der Proben sorgfältig die Hände.
5. Verwenden Sie das Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr.
6. Jedes nicht verwendete Material muss gemäß den geltenden Bestimmungen entsorgt werden.
7. Die Komponenten dieses Geräts können Substanzen tierischen und/oder menschlichen Ursprungs haben. Auch wenn dieses Material nicht infektiös ist, muss es als potenziell infektiös behandelt werden. Das gesamte Material muss als potenziell infektiös gehandhabt und entsorgt werden. Beachten Sie die lokalen Bestimmungen für klinische Abfälle.
8. Die Entwicklerlösung enthält Natriumazid. Das Natriumazid kann mit Metallrohren reagieren und explosive Komponenten bilden. Verwenden Sie viel Wasser, wenn Sie die Lösung entsorgen.
9. Wenn der Test oder Teile davon (Kassetten oder Entwicklerlösung) im Kühlschrank aufbewahrt werden, müssen sie vor ihrem Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.
10. Die Kassetten sind in den ungeöffneten Verpackungen bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum haltbar. Die Verpackung erst direkt vor dem Gebrauch öffnen.
11. Es können verschiedenen Tests gleichzeitig durchgeführt werden.
12. Um Kontaminierungen zu vermeiden, darf die Spitze der Flasche mit der Entwicklerlösung nicht die Mikrotiterplatte der Probe berühren.
13. Es ist wichtig, dass die Tropfengröße der Entwicklerlösung die richtige ist. Dazu leicht drücken, damit zwischen zwei Proben Luft durch die Flasche strömen kann.
14. Es muss vermieden werden, hämolysierte Proben zu verwenden sowie solche, die zu häufig eingefroren und wieder aufgetaut worden sind. In beiden Fällen können falsche Ergebnisse (bedeutender Verlust des Signals) und Ablesefehler wegen mangelnder Sichtbarkeit resultieren.

PROBENGEWINNUNG UND HANDHABUNG:

Blut sollte unter aseptischen Bedingungen durch Venenpunktion und von qualifiziertem Personal entnommen werden. Der Einsatz einer sterilen oder aseptischen Technik gewährleistet die Unversehrtheit der Probe. Serumproben sollten nach der Entnahme gekühlt aufbewahrt werden (bei 2-8°C); kann der Test nicht innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme durchgeführt werden, so sind die Proben tief zu frieren (-20°C). Proben sollten nicht wiederholt gefroren und aufgetaut werden. Lipämische, hämolytische oder kontaminierte Seren nicht testen. Seren, die grobe Partikel enthalten oder trüb sind, sollten vor dem Einsatz zentrifugiert werden.

TESTVORBEREITUNG:

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig.

TESTDURCHFÜHRUNG:

1. Nehmen Sie alle Reagenzien eine Stunde vor der Durchführung des Tests heraus, damit sie Raumtemperatur erreichen, und vermeiden Sie, die Kassette aus der Verpackung zu nehmen.
2. Öffnen Sie die Verpackung und legen Sie Kassette **1** auf eine ebene Fläche.
3. Mit einer Mikropipette geben Sie in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte 40 µl Probe; fangen Sie immer mit Test M an, und warten Sie, dass der Tropfen absorbiert wird.
4. Geben Sie in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte zwei Tropfen Entwicklerlösung **2**.
5. Ablesen der Ergebnisse nach 20 Minuten.

 *Späteres Ablesen als nach 20 Minuten kann zu ungenauen Ergebnissen führen.*

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE:

Jede Charge wird vor ihrer Auslieferung einer internen Qualitätskontrolle unterzogen, wobei das Validierungsprotokoll strengste Anforderungen erfüllt. Das Protokoll zu jeder Charge ist auf Anfrage verfügbar.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE UND TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER:

Um die Ablesung der Ergebnisse durchzuführen und festzustellen, ob die Probe positiv ist, wird eine im Kit enthaltene Intensitätenkarte verwendet. Diese weist vier farbmimetrische Stufen von 0,5 bis 3 auf. Wenn die Intensität der Testlinie unter 0,5 liegt, wird die Probe als negativ angesehen. Sie gilt als positiv, wenn der Streifen größer oder gleich diesem Wert ist.

Die Kontrolllinie muss immer positiv und lesbar sein, wenn der Test korrekt durchgeführt worden ist. Wenn diese Linie nicht auftritt, muss der Test als ungültig angesehen werden.

Wenn in der Probe spezifische Antikörper für jedes Konjugat auftreten, zeigen die entsprechenden Testlinien eine positive Reaktion an. Ein Serum bzw. ein Citrat-Plasma gilt als positiv, wenn außer der Kontrolllinie eine oder verschiedene Testlinien auftreten.

Die Interpretation der Ergebnisse erfolgt unter Berücksichtigung der folgenden Tabelle:



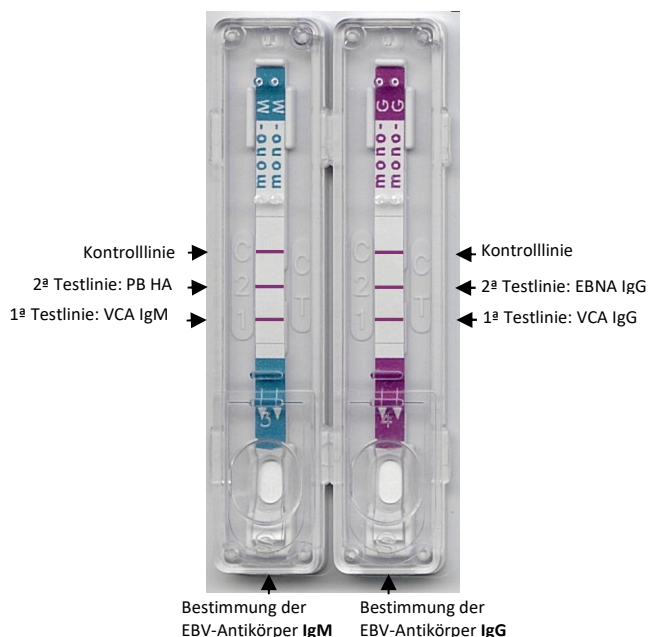


Tabelle. Interpretation der serologischen Marker der durch EBV verursachten Mononukleotie.

HA: Heterophile Antikörper.

Antikörper gegen EBV				Fall	Interpretation
PB HA	VCA-IgM	VCA-IgG	EBNA-IgG		
-	-	-	-	Keine Infektion	Es hat keinen Kontakt mit EBV gegeben.
+/- *	+	+/-	-	Rezente Infektion **	*Kinder unter vier Jahren und 20 % der Erwachsenen entwickeln keine heterophilen Antikörper. **Für den Fall, dass nur für VCA-M ein positives Ergebnis erhalten wird, wird empfohlen, eine zweite Probe in 1 bis 2 Wochen zu analysieren.
-	-	+	+/- ***	Vergangene Infektion	*** Wenn für EBNA-G ein positives Ergebnis erscheint, bezieht sich dieses auf eine latente vergangene Infektion und bietet keinerlei Anzeichen für eine rezente Infektion. Wenn das Ergebnis für EBNA-G negativ ausfällt, so kann es sich um ein falsches negatives Ergebnis für EBNA-G handeln, und daher empfehlen wir Ihnen, andere Testtechniken anzuwenden.
+/-	+	+	+	Primäre späte Infektion	Vergangene Infektion mit noch feststellbaren Konzentrationen an IgM.
+	-	-	-	Nicht eindeutig	Eine zweite Probe analysieren und/oder andere Techniken anwenden.

Alle Ergebnisse, in denen die folgende Kombination auftritt: EBNA-G positiv und VCA-G mit negativen Ergebnissen, werden als ungültig angesehen und müssen wiederholt und/oder mit anderen Techniken untersucht werden.

EINSCHRÄNKUNGEN:

1. Der Kit ist für die Untersuchung von humanem Serum/Citrat-Plasma.

2. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig.

3. Dieser Test zeigt nicht den Infektionsort. Er kann eine Erregerisolierung nicht ersetzen.

4. Wie bei jedem diagnostischen Test müssen die Ergebnisse unter Berücksichtigung aller klinischen und Labordaten bewertet werden. Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden.

5. Die Testergebnisse sind qualitativer Natur. Es besteht keine Korrelation zwischen der Größe des positiven Ergebnisses und dem Antikörper-Titer in der Probe.

6. Dieser Test ist verifiziert worden, um mit humanen Serum/Citrat-Plasma verwendet zu werden. Er ist nicht für andere Arten von Proben verifiziert worden.

7. Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt von einer geeigneten Probengewinnung, Transport, Lagerung und Verarbeitungsverfahren ab.

8. Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Infektion nicht aus.

9. Ein positives Testergebnis schließt die Möglichkeit nicht aus, weitere Pathogene mit der Erkrankung assoziiert sind.

10. Bei Kranken mit Infektionen durch Zytomegalie-Virus können mit Epstein-Barr-Virus falsche positive Ergebnisse auftreten.

11. Die Sera immundeprimierter Patienten können falsche negative Ergebnisse zeigen.

12. Andere Krankheiten (Zytomegalie-Virus, Toxoplasmose, Adenovirus, Rubeola) können zu der infektiösen Mononukleose ähnlichen Symptomen führen und sind bei Verdacht dieses Symptoms auszuschließen.

13. Die Funktionsmerkmale wurden nicht an Patienten mit Nasopharyngealkarzinom, Burkitt-Lymphom und sonstigen mit EBV assoziierten und von der infektiösen Mononukleose abweichenden Krankheiten studiert.

14. Da 95 % der Erwachsenen vorherigen Kontakt mit EBV gehabt haben, zeigt die Mehrheit der Erwachsenen Antikörper als Anzeichen für vergangene Infektionen. Eine hohe Konzentration an Antikörpern kann über Jahre hinweg vorhanden sein und muss nicht notwendigerweise auf eine rezente Infektion hinweisen.

15. Bei Kindern kommt es häufig vor, dass keine heterophilen Antikörper vorliegen.

16. In einigen Individuen kann sich das Auftreten von heterophilen Antikörpern über Monate hinziehen.

17. Einige Patienten mit vergangener Infektion zeigen keine IgG-Antwort gegenüber EBNA, sondern nur gegenüber VCA. Um auszuschließen, dass es sich um keine akuten Fälle handelt, wird empfohlen, alternative Techniken zu verwenden.

LEISTUNGSDATEN:

• SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT:

Es wurden 390 Proben gegenüber einem kommerziell erhältlichen ELISA-Test hinsichtlich der VCA-G-Linie getestet.

Es wurden 390 Proben gegenüber einem kommerziell erhältlichen ELISA-Test hinsichtlich der EBNA-G-Linie getestet.

Es wurden 197 Proben gegenüber einem kommerziell erhältlichen ELISA-Test hinsichtlich der VCA-M-Linie getestet.

Es wurden 197 Proben gegenüber einem kommerziell erhältlichen Agglutinations-Test hinsichtlich der PB-Linie getestet.

Die Ergebnisse sind wie folgt:



Testlinie	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
VCA-M	91	97
PB	94	99
VCA-G	92	95
EBNA-G	91	92

• INTRA-ASSAY GENAUIGKEIT:

3 Proben (eine positive in der Nähe der Bestimmungsgrenze für jeden Test und eine negative) wurden 5 Mal in einem einzigen Test untersucht, der von demselben Anwender unter denselben Arbeitsbedingungen durchgeführt wurde.

In allen Tests wurden ähnliche Ergebnisse beobachtet.

• INTER-ASSAY GENAUIGKEIT:

3 Proben (eine positive in der Nähe der Bestimmungsgrenze für jeden Test und eine negative) wurden einzeln 3 Tage lang nacheinander von zwei verschiedenen Anwendern getestet.

In allen Tests wurden ähnliche Ergebnisse beobachtet.

• KREUZREAKTIVITÄT UND INTERFERENZEN:

Einige Seren mit hohen Titern für Rheumafaktor können falsche positive Ergebnisse beim VCA-IgM-Test erbringen.

Es wurden 46 für rheumatoide Faktor (RF größer oder gleich 2+ in einem handelsüblichen Latex) positive Proben untersucht, von denen 19 mit Virapid® VCA M ein falsches positives Ergebnis ergaben.

Alle wegen RF fälschlicherweise positiv für VCA M getesteten Proben waren für HA negativ und im Teil G des Tests positiv, wodurch das Risiko eines inkorrekten Diagnose minimiert wurde.

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLS:

	Für die <i>In vitro</i> Diagnostik
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Bei x-y°C lagern
	Inhalt ausreichend für n Bestimmungen
	Chargen-Nummer
	Bestell-Nummer
	Gebrauchsanleitung beachten
	Negatives Ergebnis
	Positives Ergebnis: geringe Intensität
	Positives Ergebnis: hohe Intensität
	Karte für die Interpretation von VIRAPID®

LITERATUR:

1. Bruu, A. L., R. Hjetland, E. Holter, L. Mortensen, O. Natas, W. Petterson, A. G. Skar, T. Skarpaas, T. Tjade, and B. Asjo. 2000. Evaluation of 12 commercial tests for detection of Epstein-Barr virus- specific and heterophile antibodies. Clin Diagn Lab Immunol 7:451-6.
2. De Paschale, M., Agrappi, C., Manco, MT., Mirri, P., Viganó, EF. And Clerici, P. 2008. Seroepidemiology of EBV and interpretation of the "isolated VCA IgG" pattern. J. Med. Virol. Dec. 23; 81(2):325-331.
3. Debyser, Z., M. Reynders, P. Goubau, and J. Desmyter. 1997. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. Clin Diagn Virol 8:71-81.
4. Dolken, G., U. Weitzmann, C. Boldt, M. Bitzer, W. Brugger, and G. W. Lohr. 1984. Enzyme-linked immunosorbent assay for IgG antibodies to Epstein-Barr virus-associated early antigens and viral capsid antigen. J Immunol Methods 67:225-33.
5. Ho, D. W., P. R. Field, and A. L. Cunningham. 1989. Rapid diagnosis of acute Epstein-Barr virus infection by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for specific immunoglobulin M (IgM) antibody without rheumatoid factor and specific IgG interference. J Clin Microbiol 27:952-8.
6. Hofmann H, P.-K. Th. 1994. Diagnosis of EBV infection by means of ELISA. Serodiagn Immunother Infect Dis 6:133-139.
7. Luka, J., R. C. Chase, and G. R. Pearson. 1984. 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 Methods 67:145-56.
8. Niederman, J. C. 1985. Chronicity of Epstein-Barr virus infection. Ann Intern Med 102:119-21.
9. Okano, M., G. M. Thiele, J. R. Davis, H. L. Grierson, and D. T. Purtilo. 1988. Epstein-Barr virus and human diseases: recent advances in diagnosis. Clin Microbiol Rev 1:300-12.
10. CDC (National Center for Infectious Diseases). Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis. www.cdc.gov/ncidod/diseases/ebv.htm.
11. Valent, C. and Ench, Y. 1985. Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis in Children. II. Heterophil Antibody and Viral-Specific Responses. Pediatric, vol. 75, nº 6, June 1985, 1011-1019.

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an:

customerservice@vircell.com

BERPRÜFT: 05/2014

