

ImmunoDOT™ EBV MONO-M

REF GB 6585



Détection rapide et qualitative des anticorps anti-VCA IgM, anti-CMV et des anticorps hétérophiles dans le sérum humain

DÉFINITION

Le Test **ImmunoDOT™ EBV MONO M** est un test immunoenzymatique (EIA) permettant une détection rapide et qualitative des anticorps anti-VCA IgM, anti-CMV et des anticorps hétérophiles dans le sérum humain. Ce test est destiné au sérodiagnostic d'une infection passée ou ancienne à EBV. Le test peut être utilisé avec **ImmunoDOT™ EBV MONO G** lors du diagnostic sérologique de la mononucléose infectieuse à EBV.

RÉSUMÉ ET EXPLICATIONS

La mononucléose infectieuse (MNI) due au Virus d'Epstein Barr (EBV), est un syndrome lymphoprolifératif transitoire, aigu, fébrile, d'évolution bénigne. C'est une infection très largement répandue infectant plus de 95% des individus adultes.

La transmission interhumaine se fait le plus souvent par la salive ; elle est d'autant plus précoce que les conditions sanitaires sont défavorables. Après pénétration dans l'oropharynx, le virus se multiplie in situ, les lymphocytes B s'infectant secondairement lors du passage dans le tissu lymphoïde pharyngé. La transmission vénérienne semble possible.

L'infection par l'EBV peut se traduire par :

- une séroconversion asymptomatique ;
- un syndrome mononucléosique modéré avec fièvre légère, angine, adénopathies surtout chez les jeunes enfants ;
- une mononucléose infectieuse (MNI) avec angine, adénopathies, asthénie, sensibilisation à certains antibiotiques (Ampicilline) surtout chez les adolescents ;
- un syndrome mononucléosique avec fatigue chronique ;
- des pathologies parfois malignes liées à la persistance du virus dans l'organisme comme les lymphomes du sujet immunodéprimé, le carcinome indifférencié du nasopharynx, la leucoplasie orale chevelue, le lymphome de Burkitt.

Les anticorps dirigés contre les différents antigènes de l'EBV, apparaissent au cours de la primo-infection selon une cinétique bien déterminée.

Les anticorps anti-VCA IgG et IgM sont dirigés contre des antigènes de capsid. Les anticorps anti-VCA IgM n'apparaissent qu'au cours d'une infection aiguë ou rarement d'une réactivation et disparaissent en 4 à 8 semaines. Les anticorps anti-VCA IgG, apparaissent dans toutes les primo-infections à EBV. Après infection, ces anticorps diminuent et persistent toute la vie.

Les anticorps anti-EBNA IgG sont dirigés contre les antigènes nucléaires. Ces anticorps apparaissent tardivement après toutes les infections à EBV. Ils sont toujours absents lors de la phase aiguë de la primo-infection.

Le test **ImmunoDOT™ EBV MONO M** permet la détection spécifique des anticorps anti-VCA-IgM et des anticorps hétérophiles qui peuvent apparaître au cours ou à la fin de l'infection EBV.

Les anticorps anti-EA sont dirigés contre les antigènes précoces. Ils apparaissent précocement dans 60 % des mononucléoses infectieuses et disparaissent rapidement. Par contre, la présence à titre élevé d'anticorps anti-EA indique une réactivation virale chez les patients immunodéprimés.

Des formes asymptomatiques sont fréquentes chez l'enfant. Dans les formes cliniques atypiques, le diagnostic peut s'avérer difficile. En effet, d'autres agents infectieux tels le cytomégalovirus (CMV), *Toxoplasma gondii*, le virus de l'herpès (HSV), de la rubéole, ou le virus de l'immuno-déficience humaine (VIH) sont responsables de syndromes mononucléosiques dont l'étiologie doit être recherchée.

Bien que l'agent causal le plus fréquemment rapporté soit le virus d'Epstein-Barr, l'incidence de la mononucléose infectieuse due à chacun de ces agents varie en fonction de l'âge et du niveau socio-économique.

Le diagnostic sérologique de l'infection à EBV est assuré par la détection conjointe des anticorps IgM et IgG (EBNA IgG, VCA IgG, VCA IgM).

Le contrôle CMV n'a pas été validé. Ne pas tenir compte des résultats obtenus pour ce paramètre. La recherche des anticorps IgM anti-CMV devra être faite par des tests sérologiques validés.

PRINCIPE DU TEST

Le test **ImmunoDOT™ EBV MONO M** utilise une technique EIA DOT BLOT pour la détection des anticorps anti-VCA IgM et des anticorps hétérophiles. Les différents antigènes sont déposés dans des puits séparés, le tout sur une membrane.

Après avoir déposé l'échantillon dans la cuve de réaction, la bandelette est introduite, pour laisser les anticorps du patient se fixer sur la membrane.

Dans un deuxième temps, après élimination des fixations non spécifiques, la réaction est amplifiée.

Pendant le troisième temps, le conjugué à la phosphatase alcaline anti-immunoglobulines humaines isotype IgM, est ajouté pour se fixer aux anticorps déjà fixés du patient.

Finalement, la bande est transférée dans un substrat enzymatique qui va réagir avec la phosphatase alcaline pour former des cercles distincts et bien visibles.

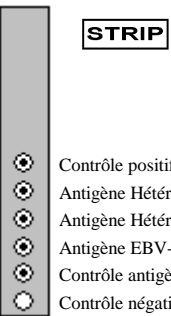
CONDITIONS DE CONSERVATION

- Conserver les réactifs et les bandelettes entre +2°C et +8°C.
- Les réactifs doivent être amenés à température ambiante (entre +15°C et + 30°C) avant utilisation. Ils doivent être utilisés dans l'heure qui suit leur mise en place dans le poste de travail chauffé.
- Eviter la contamination des réactifs, qui peut produire des résultats erronés.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

- Station de travail (incubateur)
- Système de prélèvement d'échantillons
- Chronomètre
- Eau distillée ou déionisée pour analyses, utilisée comme clarifiant
- Pipettes
- Papier absorbant pour essuyer les bandes de test

COMPOSITION DU COFFRET

Bandelettes ImmunoDOT™ EBV MONO M	50
 <p>STRIP</p> <ul style="list-style-type: none"> ☉ Contrôle positif ☉ Antigène Hétérophile : niveau 1 (origine bovine) (sensibilité haute) ☉ Antigène Hétérophile : niveau 2 (sensibilité faible) ☉ Antigène EBV-VCA purifié (gp 125, purifié par chromatographie d'affinité) ☉ Contrôle antigène CMV (AD 169) ☉ Contrôle négatif <p>(*) partiellement purifié à partir d'EBV de souche P3HR1</p>	
Diluant DIL SPE <i>composé d'un tampon (pH 6,2-7,6), d'anticorps anti-humain de type IgG (15 mg/ml) utilisé pour éviter des interférences due à la présence de facteurs rhumatoïdes ou d'immunoglobuline isotype IgG, de protéines stabilisantes et d'azide de Sodium <0,1% comme agent conservateur.</i>	2 x 50ml
Activateur SOLN ENH <i>composé de chlorure de sodium et d'azide de Sodium <0,1%.</i>	2 x 50ml
Conjugué CONJ IgM <i>composé d'anticorps de chèvre anti-IgM humains conjugués à la phosphatase alcaline, dans un tampon (pH 6,2-7,6), et associé à des protéines stabilisantes et d'azide de Sodium <0,1% comme agent conservateur.</i>	2 x 50ml
Révéléteur SUBS BCIP-NBT <i>composé de phosphate de 5-bromo-4-chloro-3-indolyle et de chlorure de p-nitro tétrazolium bleu dans un tampon (pH 8,0-11,0), 0,8 % de diméthylformamide et d'azide de Sodium <0,1%.</i>	2 x 50ml
Contrôle positif EBV CONTROL + <i>composé de sérum humain contenant des anticorps hétérophiles, des anticorps anti-VCA IgM et de l'azide de Sodium <0,1%.</i>	1 x 100µl
Contrôle positif CMV CONTROL + <i>composé de sérum humain contenant des anticorps anti-CMV et de l'azide de Sodium <0,1%.</i>	1 x 100µl
Cuves de réactions	200
Notice technique	1

ÉCHANTILLONS

- Le test **ImmunoDOT™ EBV MONO-M** nécessite 10µl de sérum.
- Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou lactescents car ils ne sont pas compatibles avec la technique.
- Recueillir les échantillons de sérum en respectant l'asepsie et les conserver entre +2°C et +8°C pendant 48 heures au maximum.
- Si le dosage est prévu dans un délai plus long, conserver les prélèvements à -20°C.

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Les réactifs du Test **ImmunoDOT™ EBV MONO M** ont été choisis de façon à former un système optimal. Ne pas les remplacer par d'autres réactifs ou d'autres systèmes d'analyse ImmunoDOT.

La dilution ou la modification de ces réactifs peut également modifier les performances du test.

Ne pas utiliser les coffrets après la date de péremption.

Utiliser de l'eau distillée ou déionisée en bouteille comme clarifiant.

Il faut observer strictement les procédures du test pour obtenir des résultats optimaux. Ne pas raccourcir ni prolonger les temps d'incubation indiqués, sous peine d'obtenir de mauvais résultats.

Certains composants du coffret contiennent de l'azide de sodium, qui peut réagir dans les canalisations de plomb et de cuivre pour former des azides de métal très explosifs. Lors de l'élimination de ces composants, rincer avec un grand volume d'eau pour empêcher l'accumulation de l'azide.

Les produits d'origine humaine ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VII 1 et 2, HTLV-1, les anticorps anti-VHC et l'antigène Hbs. Toutefois, s'agissant de produits potentiellement infectieux, il est nécessaire de les manipuler avec les précautions d'usage.

PRÉPARATION DU TEST

1. Allumer la station de travail et régler la température en fonction des instructions d'utilisation de votre appareil.
2. Sortir 4 cuves de réaction et les introduire dans les emplacements appropriés de la station de travail.
Pour la station de travail (grand format) : ajouter de l'eau distillée jusqu'à la ligne de remplissage du réservoir de clarifiant prévu.
Pour la station de travail (petit format) : utiliser un récipient adéquat et suffisamment d'eau distillée pour couvrir toutes les fenêtres de réaction de la membrane.
3. Identifier une bandelette pour chaque échantillon.
4. Placer :
 - 2 ml de diluant (n° 1) dans la cuve de réaction n° 1
 - 2 ml d'activateur (n° 2) dans la cuve de réaction n° 2
 - 2 ml de conjugué (n° 3) dans la cuve de réaction n° 3
5. Laisser incuber 10 minutes.
6. Vérifier que la température du bloc chauffant soit conforme aux instructions du manuel d'utilisation propre au modèle de la station de travail.
7. Immerger la bandelette dans le bain d'eau distillée pendant 30 secondes, juste avant de commencer le protocole opératoire. Éviter la formation de bulles d'air.

1. INCUBATION DES SERUMS

- Ajouter 10 µl de sérum échantillon ou de contrôle positif dans la cuve 1.
- Plonger la bandelette dans la cuve 1.
- Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut.
- **Laisser incubé 60 mn.**

2. LAVAGE

- Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite durant 10 secondes de façon à ce que l'eau diffuse parfaitement au travers de la membrane.
- Eliminer le surplus d'eau distillée sur un papier absorbant.

3. ACTIVATEUR

- Placer la bandelette dans la cuve 2.
- Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut.
- **Laisser incubé 5 mn.**

4. LAVAGE

- Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite durant 10 secondes de façon à ce que l'eau diffuse parfaitement au travers de la membrane.
- Eliminer le surplus d'eau distillée sur un papier absorbant.

5. CONJUGUE

- Placer la bandelette dans la cuve 3.
- Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut.
- **Laisser incubé 30 mn.**
- **Au début de cette incubation, verser 2 ml de réactif 4 dans la cuve N°4.**

6. LAVAGE

- Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite durant 10 secondes de façon à ce que l'eau diffuse parfaitement au travers de la membrane.
- Immerger la bandelette dans le clarifiant (eau distillée).
- **Laisser tremper 5 mn sans agiter.**
- Eliminer le surplus d'eau distillée sur un papier absorbant.

7. REVELATEUR

- Placer la bandelette dans la cuve 4.
- Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut.
- **Laisser incubé 5 mn.**

8. LAVAGE

- Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite durant 10 secondes de façon à ce que l'eau diffuse parfaitement au travers de la membrane.

9. SECHAGE

- Eliminer l'eau résiduelle avec un papier absorbant, et **laisser sécher pendant 5 min avant d'interpréter le résultat.** Les bandelettes doivent être parfaitement sèche avant d'être lues. **Un faux positif peut apparaître si la bandelette n'est pas complètement sèche.**

10. LECTURE DE LA BANDE D'ANALYSE

Positif : Un cercle avec une limite distincte et **FACILEMENT VISIBLE** apparaît au centre de la fenêtre. Le périmètre extérieur de la fenêtre doit être blanc à gris pâle.

Négatif : S'il n'y a pas de cercle ou un cercle difficile à voir, l'analyse doit être considérée comme négative.

Chaque fenêtre doit être lue indépendamment.

Les puits de contrôles positif et négatif doivent avoir correctement réagi sinon recommencer le test.

L'intensité de coloration des puits contrôle positif ne doit pas être considérée comme un étalon. Les réactions positives des puits contenant des antigènes seront plus ou moins foncées, en fonction de leur concentration en anticorps, que le contrôle positif de la bandelette.

Les **sérums de contrôle positif**, inclus dans les coffrets, sont modérément positifs pour tous les anticorps. Les performances de chaque kit peuvent être confirmées à la réception par une série de test utilisant ces sérums de contrôle, qui doivent donner un résultat positif.

L'analyse est réalisée avec des réactifs chauffés à **+44°C/+48°C**. La température de la station de travail doit dépasser la température d'analyse dans la cuve de réaction. La température de la station de travail doit être surveillée.

LIMITES DE LA TECHNIQUE

⇒ Ce test constitue une procédure qualitative de dépistage et il ne peut pas être utilisé pour détecter les variations de titres d'anticorps.

⇒ Chez l'enfant de moins d'un an, les anticorps maternels seront principalement détectés.

⇒ Des sérums hyperlipémiques, hémolysés ou contaminés par des bactéries peuvent entraîner des résultats erronés.

⇒ Le test **ImmunoDOT™ EBV MONO M** utilisé seul ne permet en aucun cas de faire un diagnostic complet d'une mononucléose infectieuse due au virus d'Epstein Barr.

⇒ Le profil sérologique complet d'une infection à EBV doit comprendre les anticorps dirigés contre les différents antigènes EBV apparaissant au cours de l'infection : EBV VCA IgM, EBV VCA IgG et EBV EBNA IgG.

⇒ Si l'on veut apprécier un état de réactivation chez un immunodéprimé ou montrer que l'EBV est associé à une maladie maligne, le titrage des anticorps et la recherche des anti-EA (early antigen) est indispensable.

⇒ **La recherche des anticorps IgG et IgM anti-CMV sera faite par des tests sérologiques validés. Ne pas rendre des résultats pour le CMV.**

⇒ L'interprétation des résultats du test **ImmunoDOT™ EBV MONO M** se fera en parallèle avec le **test ImmunoDOT™ EBV MONO G** technique permettant de détecter les anticorps anti-EBNA et anti-VCA isotype IgG.

⇒ Si un échantillon est prélevé moins de 5 jours après la primo-infection, l'anticorps spécifique peut ne pas être encore détectable.

⇒ Les performances de ce coffret n'ont pas été testés sur une population de nouveaux nés ou sur des échantillons prénataux, dans un environnement non cliniques pour des tests à la maison.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Lecture et interprétation pour le puits VCA. Le coffret **ImmunoDOT™ EBV MONO M** est un test pour la détection rapide et qualitative des anticorps EBV VCA IgM.
2. Lecture et interprétation pour les puits anticorps hétérophiles : les deux puits antigènes hétérophiles (niveau 1 et niveau 2) apportent une aide à l'interprétation. Ils correspondent à deux seuils de positivité : le niveau 1 correspond à un taux faible en anticorps hétérophiles, le niveau 2 à un seuil plus élevé.
3. Contrôle CMV : nous renseigne sur une éventuelle présence d'anticorps anti-CMV IgM, il s'agit uniquement d'un puits contrôle et il n'est présent qu'à titre indicatif.

ImmunoDOT™ MONO M		ImmunoDOT™ MONO G		Signes cliniques ou hématologiques	INTERPRÉTATION Stade de l'infection EBV	Fréquence du profil	REMARQUES
ACs* MNI**	VCA IgM	EBNA IgG	VCA IgG				
-	-	-	-	• absents	sujet séronégatif (non infecté)	adulte : rare enfant : fréquent	
-/+	+	-	-	• absents • peu clairs • caractéristiques	infection primaire (phase précoce)	adulte : rare enfant et adolescent: fréquent	Contrôler la sérologie dans 3 semaines.
- +	+ +	- -	+ +	• absents • peu clairs • caractéristiques	infection primaire	adulte : rare enfant et adolescent: fréquent	Contrôler la sérologie dans 3 semaines.
- -	+ +	+ -/+	+ +	• absents • peu clairs	fin d'infection primaire (phase transitoire)	Profil fréquent chez l'enfant et l'adolescent	Contrôler la sérologie dans 3 semaines
-	-	+	+	• absents	infection ancienne	Profil fréquent (95% de la population adulte)	2 % des individus n'ont jamais d'EBNA IgG

AUTRES CAS

ImmunoDOT™ MONO M		ImmunoDOT™ MONO G		Signes cliniques ou hématologiques	INTERPRÉTATION Stade de l'infection EBV	Fréquence du profil	REMARQUES
ACs* MNI**	VCA IgM	EBNA IgG	VCA IgG				
+/-	+	+	+	• absent • peu clairs • caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> • Infection chronique active ? • Réactivation ? • Infection récente évolutive ? 	Profil fréquent chez les sujets immunodéprimés greffés ou transplantés Plus rare chez les autres sujets	Rechercher et titrer les marqueurs sérologiques suivants : <ul style="list-style-type: none"> • VCA IgM • VCA IgG • EA IgG • CMV IgG et IgM • Toxo IgG et IgM

(*) ACs = Anticorps hétérophile (**) MNI = MonoNucléose Infectieuse

Remarques :

- La présence d'anticorps anti-VCA IgG et d'anti-VCA IgM avec ou sans anticorps hétérophiles confirme une infection aiguë ou active. Chez le jeune enfant, la primo-infection est le plus souvent silencieuse et sans signes caractéristiques.
- Une réponse négative des antigènes hétérophiles indique l'absence des anticorps hétérophiles mais n'exclut pas une mononucléose infectieuse active.
- Une réponse positive des antigènes hétérophiles indique la présence d'anticorps hétérophiles et peut signifier une MNI récente ou en cours. Ils apparaissent en 2 à 3 semaines et disparaissent en 1 à 3 mois. Par ailleurs, les infections à CMV, HSV, toxoplasmose, hépatite B, rubéole, induisent également des anticorps hétérophiles. Il faut cependant noter que dans 20 à 30 % des cas, les anticorps hétérophiles n'apparaissent pas (ou très tardivement) surtout chez l'enfant.
- **Contrôle CMV** : La détection des IgM anti-CMV ne permet pas le diagnostic de l'infection par le CMV. Le puits CMV est un puits contrôle, les résultats seront confirmés par des techniques de dosage validées pour le CMV en IgG et en IgM. Les infections à CMV sont fréquentes et ubiquitaires. La prévalence de l'infection est d'autant plus élevée qu'il s'agit de populations vivant dans des conditions socio-économiques défavorables ou s'il existe de fortes concentrations humaines. En France, environ 50% des adultes de 25 à 30 ans ont des anticorps anti-CMV. La primo-infection à CMV est dans la majorité des cas sans traduction clinique ou de symptomatologie banale. Souvent on observe un syndrome mononucléosique sans anticorps hétérophiles. Le CMV est responsable de 70% des syndromes mononucléosiques post transfusionnels (5,6,7). Le CMV est une des premières causes d'infections chez les greffés et au cours des hémopathies malignes. Les infections à CMV sont aussi très fréquentes au cours du SIDA.

Le Test **ImmunoDOT™ EBV MONO M** mesure deux réponses d'anticorps spécifiques : les anticorps anti-EBV VCA IgM et les anticorps hétérophiles. **La présence d'anticorps anti-CMV IgM ne sert qu'à des fins de contrôle.**

1. Pour les anticorps VCA IgM

Une étude a été réalisée dans un centre de référence pour l'EBV. 95 sérums de patients ont été testés par rapport à la technique de référence, l'immunofluorescence (IF). Les résultats sont les suivants :

Dot \ IF	Positif	Négatif
Positif	40	2
Négatif	1	52

Sensibilité 40/41 : 97,6%
Spécificité 52/54 : 96,3%
Concordance 92/95 : 96,8%

2. Pour les anticorps hétérophiles

Une étude a été réalisée dans un centre de référence pour l'EBV. 61 sérums de patients ont été testés

La spécificité est déterminée par rapport à une population séronégative pour l'EBV et une population dont la sérologie montre une infection ancienne.

La sensibilité de la technique est déterminée sur une population dont la technique Paul-Bunnell et Davidsohn (PBD) est positive et dont la primo infection à EBV est confirmée.

Dot \ IF	Positif	Négatif
Positif	26	1
Négatif	1	33

Sensibilité 26/27 : 96 %
Spécificité 33/34 : 97 %
Concordance 59/61 : 97%

3. Reproductibilité pour les puits VCA IgM

Des échantillons positif et négatif en ELISA ont été testés 5 fois en technique DOT MONO M. La reproductibilité est estimée sur 3 échantillons: Fortement positif , Positif et Négatif :

INTRA-ESSAI			INTER-ESSAIS		
Titre Elisa	N	Aspect VCA	N	Aspect VCA	
500 U/ml	+++	5	Sombre cerclé	5	Sombre cerclé
280 U/ml	+	5	Clair cerclé	5	Clair cerclé
30 U/ml	-	5	Absence de spot	5	Absence de spot

4. Reproductibilité pour les puits anticorps hétérophiles

Des échantillons positif et négatif en ELISA ont été testés 5 fois en technique DOT MONO M. La reproductibilité est estimée sur 3 échantillons: Fortement positif , Positif et Négatif :

INTRA-ESSAI			INTER-ESSAIS		
PBD	N	Puits hétérophiles	N	Puits hétérophiles	
++	5	Sombre cerclé : niveau 1 et 2	5	Sombre cerclé : niveau 1 et 2	
+	5	Clair cerclé : niveau 1	5	Clair cerclé : niveau 1	
-	5	Absence de spot	5	Absence de spot	

US Patent 247,934 (MA Fletcher)

Biggar RJ, W Henle, G Fleisher, J Bocker, ET Lennette , G Henle 1978. Primary Epstein-Barr virus infections and African infants. I. Decline of maternal antibodies and time of infection Int J Cancer 22:239.

Biggar RJ, G Henle, J Bocker, ET Lennette, G Fleisher, W Henle 1978. Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. II. Clinical and serological observations during seroconversion. Int J Cancer 22: 244.

Fleisher G, W Henle, G Henle, ET Lennette, RJ Biggar 1979. Primary Epstein-Barr virus infection in American infants: Clinical and serological observations. J Infect Dis 139: 553.

Sumaya CV, Y Ench 1985. Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis in Children II. Heterophil Antibody and Viral-Specific Responses. Pediatrics 75:1011.

Lennette ET 1995. Epstein-Barr Virus (EBV). In Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections, 7th Ed.(EH Lennette, DA Lennette, ET Lennette) American Public Health Association, Washington D.C.

Lennette ET, L Rymo, Y Mohan, G Masucci, K Merk, L Timar, G Klein 1993. Disease-related Differences in Antibody Patterns Against EBV-encoded Nuclear Antigens EBNA 1, EBNA 2 and EBNA 6. Eur J Cancer 29A: 1584.

Friedman HM 1981. Cytomegalovirus: subclinical infection or disease? Am J Med 70:215.

Lajo A, C Borque, F Del Castillo, A Martin-Ancel 1994. Mononucleosis caused by Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in children: a comparative study of 124 cases. Pediat Infect Dis J 13:56.

Evans AS 1969. Infectious mononucleosis and other mono-like syndromes. N Eng J Med 286:836.

Hofgartner WT, SR Swanzy, RM Bacina, J Condon, M Gupta, PE Matlock, DL Bergeron, JJ Plorde, TR Fritsche 1997. Detection of Immunoglobulin G (IgG) and IgM Antibodies to Toxoplasma gondii: Evaluation of Four Commercial Immunoassay Systems. J Clin Micro 35:3313.

INDEX DES SYMBOLES



Déclaration de conformité CE



Test rapide



Dispositif de Diagnostic *In Vitro*



Référence Catalogue



Numéro de Lot



Date d'expiration



Nombre de tests



Consulter les instructions d'utilisation



Limites de température



Risque biologique



Contient de l'azide de sodium



A reconstituer

SCHEMA RÉCAPITULATIF DU MODE OPÉRATOIRE

Préparation : STATION DE TRAVAIL	<ul style="list-style-type: none"> Allumer et préparer la station de travail (selon le modèle). La température dans les cuves doit être comprise entre +44°C et +48°C. Immerger la bandelette dans le bain d'eau distillée pendant 30 secondes. Distribuer : <ul style="list-style-type: none"> - 2 ml de diluant (1) dans la cuve 1 - 2 ml d'activateur (2) dans la cuve 2 - 2 ml de conjugué (3) dans la cuve 3 Laisser incuber 10 minutes 	INCUBATION 10 minutes
1. INCUBATION DES SERUMS	<ul style="list-style-type: none"> Ajouter 10 µl de sérum échantillon ou de contrôle positif dans la cuve 1. Plonger la bandelette dans la cuve 1. Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut. Laisser incuber 60 mn. 	INCUBATION 60 minutes
2. LAVAGE	<ul style="list-style-type: none"> Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite de façon à ce que l'eau diffuse parfaitement au travers de la membrane. Éliminer le surplus d'eau distillée sur un papier absorbant. 	10 secondes
3. ACTIVATEUR	<ul style="list-style-type: none"> Placer la bandelette dans la cuve 2. Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut. Laisser incuber 5 mn. 	INCUBATION 5 minutes
4. LAVAGE	<ul style="list-style-type: none"> Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite de façon à ce que l'eau diffuse parfaitement au travers de la membrane. Éliminer le surplus d'eau distillée sur un papier absorbant. 	10 secondes
5. CONJUGUE	<ul style="list-style-type: none"> Placer la bandelette dans la cuve 3. Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut. Laisser incuber 30 mn. Au début de cette incubation, verser 2 ml de réactif 4 dans la cuve N°4. 	INCUBATION . 30 minutes
6. LAVAGE	<ul style="list-style-type: none"> Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite de façon à ce que l'eau diffuse parfaitement au travers de la membrane. Immerger la bandelette dans le clarifiant (eau distillée). Laisser tremper 5 mn. Éliminer le surplus d'eau distillée sur un papier absorbant. 	10 secondes puis INCUBATION 5 minutes
7. REVELATEUR	<ul style="list-style-type: none"> Placer la bandelette dans la cuve 4. Homogénéiser en agitant 10 fois de bas en haut. Laisser incuber 5 mn. 	INCUBATION 5 minutes
8. LAVAGE	<ul style="list-style-type: none"> Laver la bandelette dans le clarifiant (eau distillée) en l'agitant de gauche à droite de façon à ce que le clarifiant (eau distillée) diffuse parfaitement au travers de la membrane. 	10 secondes
9. SECHAGE	<ul style="list-style-type: none"> Éliminer l'eau résiduelle avec un papier absorbant, et <u>laisser sécher avant d'interpréter le résultat.</u> 	5 minutes

BioMédical Diagnostics SA



Siège social

Actipole 25
4 bld de Beaubourg
77435 Marne la Vallée Cx2
France

Tél : 33 1 64 62 10 12
Fax : 33 1 64 62 09 66

E-mail : support@bmd-net.com
Internet : www.bmd-net.com

ImmunoDOT™ EBV MONO-M

REF GB 6585



Qualitative detection of anti-EBV VCA-IgM and heterophile antibodies that may appear during or after EBV infection.

INTENDED USE

The **ImmunoDOT™ EBV MONO-M Test** is a qualitative enzyme immunoassay (EIA) for the rapid detection of IgM antibodies to Paul-Bunnell heterophile, Epstein-Barr virus capsid antigen (EBV-VCA), and cytomegalovirus (CMV) in human serum. This test is intended to be used for the serodiagnosis of any prior infections by EBV. When used in conjunction with the **ImmunoDOT™ EBV MONO-G Test** it is an aid in the serodiagnosis of infectious (EBV) mononucleosis.

SUMMARY AND EXPLANATION

Infectious mononucleosis (IM) associated with Epstein-Barr Virus (EBV), is a transitory, acute and febrile lymphoproliferative syndrome with a benign course. It is widespread with over 95% of adults having been infected.

Transmission between people is most often through the saliva, and infection is seen earlier with poor sanitation conditions.. After penetration into the oral pharynx, the virus multiplies in situ, where the B lymphocytes are secondarily infected during passage into the pharyngeal lymphoid tissue. Venereal transmission would appear to be possible.

EBV Infection may be expressed as:

- an asymptomatic seroconversion;
- a moderate mononucleosidic syndrome with slight fever, sore throat, and adenopathies, particularly in young children;
- an infectious mononucleosis (IM) with sore throat, adenopathies, asthenia (weakness), sensitivity to certain antibiotics (Ampicillin) particularly in adolescents;
- a mononucleosidic syndrome with chronic fatigue ;
- occasional malignant pathologies related to the persistence of the virus in the host such as lymphoma in the immunocompromised patient, undifferentiated nasopharyngeal carcinoma, oral hairy cell leukemia,, and Burkitt's lymphoma.

A well defined kinetic assay shows that the antibodies directed against the various EBV antigens appear during the course of the primary infection.

Anti-VCA IgG and IgM antibodies are against capsid antigens. Anti-VCA IgM antibodies appear only during acute infection or rarely during reactivation and disappear within 4 to 8 weeks. Anti-VCA IgG antibodies appear in all primary infections with EBV. After infection, these antibodies decline and persist for life.

Anti-EBNA IgG are antibodies to nuclear antigens. These antibodies appear late after EBV infection. They are always absent during the acute phase of primary infection.

The **ImmunoDOT™ EBV MONO-M** test detects, anti-EBV VCA-IgM and heterophile antibodies that may appear during or after EBV infection.

Anti-EA antibodies to Early Antigens (EA) appear in 60 % of infectious mononucleosis and disappear quickly. However, an anti-EA antibody level is demonstrated during a viral reactivation among immunodeficient patients.

Asymptomatic forms are frequent for children. In no specific clinical forms, the diagnosis can be difficult. Indeed, other infectious agents such as cytomegalovirus (CMV), Toxoplasma gondii, Herpes Virus (HSV), Rubella, or Human Immunodeficiency Virus (HIV) may cause mononucleosis syndromes.

Although the first viral agent is Epstein-Barr Virus and the infectious mononucleosis incidence due to each one of these agents varies according to the age and to the socio-economic class.

EBV infection is serologically diagnosed by concurrent detection of both IgM and IgG antibodies (EBNA IgG, VCA IgG, VCA IgM).

Cytomegalovirus (CMV) control has not been validated. Ignore the results obtained for this parameter. Testing for anti-CMV antibodies will have to be performed using validated serological tests.

ASSAY PRINCIPLE

The **ImmunoDOT™ EBV MONO-M** uses an enzyme-linked immunoassay (EIA) dot technique for the detection of the anti-VCA IgM and heterophile antibodies. The different antigens are present as discrete dots on the assay strip.

First, an assay strip is incubated in a vessel with dilute patient serum, thus allowing any antibodies present in the sample to react with the test antigens immobilized on the assay strip.

In the second step, the specificity is enhanced by removal of non-specifically bound materials.

In the third step the strip is exposed to alkaline phosphatase conjugated to anti-human IgM antibodies so that the enzyme conjugate may bind to any previously bound patient antibodies.

Finally, the strip is transferred to the vessel containing the enzyme substrate reagent which then reacts with the conjugated alkaline phosphatase, producing distinct, clearly visible dots.

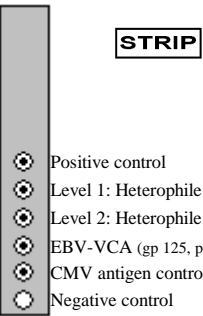
STORAGE CONDITIONS

- Store reagents and assay strips between +2°C and +8°C.
- Reagents must be at room temperature (between +15°C and +30°C) before use. They should be used within an hour following placement in the heated workstation (incubator)
- Avoid contamination of reagents as that can give erroneous results.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Workstation (incubator)
- Specimen collection apparatus
- Timer
- Analytical quality distilled or deionized water to be used for the washes.
- Pipets
- Absorbent toweling to blot dry the assay strip

MATERIAL PROVIDED

ImmunoDOT™ EBV MONO-M Assay Strip	50
 <p>STRIP</p> <ul style="list-style-type: none"> ⊗ Positive control ⊗ Level 1: Heterophile Antigen (purified from bovine red blood cells) (more sensitive level) ⊗ Level 2: Heterophile Antigen (less sensitive level) ⊗ EBV-VCA (gp 125, purified by affinity chromatography) ⊗ CMV antigen control (glycine lysate of strain AD-169) ○ Negative control 	
Diluent DIL SPE <i>Consists of buffer (pH 6.2-7.6) containing IgG absorbent (goat anti-human IgG, against rheumatoid factor or Immunoglobulin G), protein stabilizers, and <0.1% NaN₃</i>	2 x 50mL
Enhancer SOLN ENH <i>Consists of sodium chloride and <0.1% NaN₃</i>	2 x 50mL
Conjugate CONJ IgM <i>Consists of alkaline phosphatase conjugated goat anti-human IgM (heavy chain specific) in buffered diluent (pH 6.2-7.6), with protein stabilizers.</i>	2 x 50mL
Developer SUBS BCIP-NBT <i>Consists of 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate and p-nitro blue tetrazolium chloride in buffered diluent (pH 8.0-11.0), 0.8% dimethylformamide and <0.1% NaN₃.</i>	2 x 50mL
Positive EBV control CONTROL + <i>consist of human sera containing IgM anti-VCA antibodies and heterophile antibodies and <0.1 % d'Azide de Sodium.</i>	1 x 100µL
Positive CMV control CONTROL + <i>consist of human sera containing anti-CMV antibodies and <0.1 % d'Azide de Sodium.</i>	1 x 100µL
Reaction Vessels	200
Package Insert	1

SAMPLE COLLECTION AND HANDLING

- The **ImmunoDOT™ EBV MONO-M Test** is performed on serum. The test requires 10 µL of serum.
- Avoid lipemic or hemolyzed serum specimens has not been shown to be an acceptable specimen.
- Collect the samples of serum aseptically and store them between +2°C and +8°C for a maximum of 48 hours.
- If the assay of the samples will not be completed within 48 hours, or for shipment of the specimens, freeze at -20°C.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *In Vitro* Diagnostic Use Only.

The **ImmunoDOT™ EBV MONO-M** reagents have been optimized for use as a system. Do not substitute reagents or strips from any other source including those from other **ImmunoDOT™** systems.

Dilution or modification of these reagents may also affect the performance of the test.

Do not use kits after the stated expiration date.

Analytical quality deionized or distilled water must be used for the washes.

Strictly adhere to the test procedures for optimal results. Do not shorten or prolong stated incubation times as this may result in poor assay performance.

Some assay components contain sodium azide (NaN₃) that may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. After disposing of reagents, flush sink with a large volume of water to prevent azide buildup.

Human sera used in the preparation of this product were tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen and for antibodies to HIV-1, HIV-2, HTLV-1, and hepatitis C virus. Because no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, handle reagents and patient samples as if capable of transmitting infectious disease.

SETUP

1. Turn on Workstation and adjust temperature according to the instructions for use of your instrument.
2. Remove 4 Reaction Vessels per test from the product box and insert into appropriate slots in Workstation.
For the large Workstation, add water up to the fill line of the Wash Vessel provided.
For the small Workstation, use an appropriate container and sufficient water to cover all reactive areas/dots of the assay strip.
3. Appropriately label the Assay Strips.
4. Place:
 - 2 mL Diluent (#1) in Reaction Vessel #1
 - 2 mL Enhancer (#2) in Reaction Vessel #2
 - 2 mL Conjugate (#3) in Reaction Vessel #3
5. Incubate for 10 minutes.
6. Verify that the temperature of the heating block is in accordance with the instructions of the manual corresponding to the model of the workstation.
7. Insert the strip in the distilled water bath (Wash) for 30 seconds, just before starting the assay procedure. Avoid the formation of bubbles on the surface.

ASSAY PROCEDURE

1. SAMPLE INCUBATION

- Add 10 µL serum sample or positive control to Reaction Vessel #1.
- Plunge assay strip into Reaction Vessel #1
- Using 10 quick up and down motions with the Assay Strip, mix contents thoroughly.
- **Let stand for 60 minutes.**

2. WASH STEP

- Remove Assay Strip from Reaction Vessel and swish in the Wash (distilled water). Use a swift back and forth motion for 10 seconds allowing for optimal washing of the Assay Strip.
- Blot the strip on an absorbent towel.

3. ENHANCER

- Place Assay Strip into Reaction Vessel #2.
- Mix thoroughly with 10 quick up and down motions.
- **Let stand for 5 minutes.**

4. WASH STEP

- Remove Assay Strip from Reaction Vessel #2 and swish in the Wash for 10 seconds as described (step #2) for 10 seconds. The wash should diffuse completely through the strip.
- Blot the strip on an absorbent towel.

5. CONJUGATE

- Place Assay Strip into Reaction Vessel #3.
- Mix thoroughly with 10 quick up and down motions.
- **Let stand for 30 minutes.**
- **At the beginning of this incubation, place 2mL of reagent #4 into the Reaction Vessel #4.**

6. WASH STEP

- Remove Assay Strip from Reaction Vessel #3 and swish in the Wash as described (step #2) for 10 seconds. The wash should diffuse completely through the strip
- DO NOT remove the Assay Strip from the wash.
- **Allow the Assay Strip to stand in the wash for 5 minutes.**
- Blot the strip on an absorbent towel.

7. DEVELOPER

- Remove Assay Strip from wash and place into Reaction Vessel #4.
- Mix thoroughly with 10 quick up and down motions.
- **Let stand for 5 minutes.**

8. WASH STEP

- Remove Assay Strip from Reaction Vessel #4 and swish in the Wash as described (step #2) for 10 seconds. The wash should diffuse completely through the strip.

9. DRY

- Blot and allow Assay Strip to dry. It is imperative that tests of borderline specimens be interpreted after the Assay Strip has been allowed to dry. **A false positive dot may be identified if the assay strip is not dry when interpreted.**

10. READING THE ASSAY STRIP

Positive: A dot with an **EASILY SEEN**, distinct border is visible in the center of the window. The outer perimeter of the window must be white to pale gray.

Negative: If no dot is seen or a dot is difficult to see, interpret it as negative.

Each dot of the assay strip is read independently.

QUALITY CONTROL

The dots of positive and negative controls must appear correctly; otherwise the test needs to be repeated.

The color intensity of the positive control must not be used as a calibrator. The reactions in dots containing antigens could have a different intensity than the positive control, because of a difference in the concentration of antibodies.

The positive control serums included in this kit, are moderately positive for all antibodies. The performance of every kit can be confirmed upon receipt by using these controls which are expected to give a positive result.

The analysis is performed with reagents warmed at **+44°C/+ 48°C**. The temperature of the workstation has to exceed the temperature in the reaction vessels. The temperature of the workstation must be watched.

LIMITATIONS

- ⇒ This is a qualitative test and therefore it cannot be used to detect changes in antibody titers.
- ⇒ Primarily maternal antibodies will be detected in children less than one year of age.
- ⇒ Lipemic or hemolysed samples or samples contaminated by bacteria could provide erroneous results.
- ⇒ The **ImmunoDOT™ EBV MONO G** test used alone is not in any case diagnostic for a mononucleosis infectious due to the Epstein Barr virus.
- ⇒ The complete serologic profile of an infection to EBV should include determinations for the presence of antibodies directed against the different EBV-antigens appearing during the course of infection: EBV VCA IgM, EBV VCA IgG and EBV EBNA IgG.
- ⇒ If one wants to determine the state of reactivation in an immuno-compromised patient or show that the EBV is associated with a malignant disease, it is essential to determine titers of the anti-EA (early antigen) antibodies.
- ⇒ **The CMV control has not been validated. Ignore any results associated with this parameter. Any testing for anti-CMV antibodies must be performed using validated serologic tests.**
- ⇒ The interpretation of the results of the **ImmunoDOT™ EBV MONO M** test should be done in parallel with those obtained with the **ImmunoDOT™ EBV MONO G** test which provides for the detection of anti-VCA isotype IgM antibodies.
- ⇒ The performance of this device has not been established for semi-quantitative utility of H1 and H2.
- ⇒ Performance with this device has not been established for either prenatal screening or newborn testing, in a non-clinical laboratory environment (e.g., point of care testing).

INTERPRETATION

1. Reading and interpreting the VCA antibodies dots. The **ImmunoDOT™ EBV MONO M** kit is a test for the rapid, qualitative detection of EBV VCA IgM antibodies.
2. Reading and interpretation of the heterophil antibody wells : The two heterophil antigen wells (1 and 2 levels) are an help for interpretation. The level 1 is a weak heterophil antibody level and the level 2 is an higher level.
3. CMV Control well allows the detection of IgM anti-CMV antibodies. It's an indicative control.

ImmunoDOT™ MONO M		ImmunoDOT™ MONO G		Hematological and clinical symptoms	INTERPRETATION EBV infection steps	Frequency of the pattern	REMARKS
ACs* MNI**	VCA IgM	EBNA IgG	VCA IgG				
-	-	-	-	<ul style="list-style-type: none"> negative 	Seronegative patient (no infected)	adult: rarely child: frequent	
-/+	+	-	-	<ul style="list-style-type: none"> negative indeterminate characteristic 	Primary infection (early step)	adult: rarely child and teenager: frequent	Serological Testing in 3 weeks
- +	+ +	- -	+ +	<ul style="list-style-type: none"> negative indeterminate characteristic 	Primary infection	adult: rarely child and teenager: frequent	Serological Testing in 3 weeks
- -	+ +	+ -/+	+ +	<ul style="list-style-type: none"> negative indeterminate 	End of primary infection (passing step)	Frequent patterns for child and teenager	Serological Testing in 3 weeks
-	-	+	+	<ul style="list-style-type: none"> negative 	Past infection	Frequent pattern (95% of the adult population)	2 % of patients never have anti-EBNA antibodies

OTHERS

ImmunoDOT™ MONO M		ImmunoDOT™ MONO G		Hematological and clinical symptoms	INTERPRETATION EBV infection	Pattern and frequency	REMARKS
ACs* MNI**	VCA IgM	EBNA IgG	VCA IgG				
+/-	+	+	+	<ul style="list-style-type: none"> negative indeterminate characteristic 	<ul style="list-style-type: none"> acute chronic infection? Reactivation ? Recent infection with evolution? 	Frequent patterns in immunodeficient patient with transplantation Rarely in other patients	Test following serological parameters : 1. IgM VCA 2. IgG VCA 3. IgG EA 4. IgG and IgM CMV 5. IgG and IgM Toxo

(*) ACs = heterophile antibodies (**) MNI = Infectious MonoNucleosis

Remarks :

- IgG anti-VCA and IgM antibodies combined with heterophile antibodies or no confirm a current infection. For children, the primary infection is often with indeterminate symptoms.
- Heterophile antibodies negative results for do not rule out the diagnosis of an accurate mononucleosis infection.
- Heterophile antibodies positive results may occur a recent or current mononucleosis infection. They appear into 2 to 3 weeks and disappear into 1 to 3 months. In addition, CMV, HSV, toxoplasmosis, hepatitis B, rubella infections, also induce heterophile antibodies. It should however be noted that in 20 to 30 % of the cases, the heterophile antibodies do not appear (or very tardily) especially for child.
- **CMV Control:** The IgM anti-CMV detection does not allow the diagnosis of the infection by CMV. **The CMV well is a control well; results should be confirmed by other validated IgG and IgM CMV tests.** CMV infections are frequent and ubiquitous. The prevalence of the infection is higher in populations living in conditions of poor sanitation or in densely populated areas (4). In France, approximately 50% of the adults from 25 to 30 years have anti-CMV antibodies. The majority of cases of primary infection with CMV are without clinical symptoms or distinct symptoms. Often mononucleosis syndromes lack heterophile antibodies. CMV is the source of 70% post transfusion mononucleosis syndromes (5,6,7). CMV is the primary cause of infections in transplant patients and during malignant hemopathy. CMV infections are also very frequent during the course of AIDS.

PERFORMANCE AND CHARACTERISTICS OF THE TEST

ImmunoDOT™ EBV MONO M test allows the detection of IgM anti-EBV VCA and heterophile antibodies. **The presence of anti-CMV IgM antibodies is used only for the controls.**

1. IgM anti-VCA antibodies

A prospective study was performed in a reference center on 95 patient samples. The test has been compared to immunofluorescence (IF).

Dot \ IF	Positive	Negative
Positive	40	2
Negative	1	52

Sensitivity 40/41: 97.6 %
Specificity 52/54: 96.3 %
Agreement 92/95: 96.8 %

2. Heterophile antibodies

A prospective study was performed in a reference center on 61 patient samples.

The specificity was estimated on a seronegative population for EBV and a population with post infection serology.

The test sensibility was estimated on a positive population for Paul-Bunnell and Davidsohn (PBD) technique and with a confirmed primary infection.

Dot \ IF	Positive	Negative
Positive	26	1
Negative	1	33

Sensitivity 26/27: 96 %
Specificity 33/34: 97 %
Agreement 59/61: 97 %

3. Reproducibility IgM anti-VCA spots

Positive and negative samples in ELISA were tested 5 times with **ImmunoDOT™ EBV MONO M** Test. Reproducibility was performed on 3 samples: high positive, positive and negative :

Results for

Elisa level	INTRA-ASSAY		INTER-ASSAYS	
	N	VCA appearance	N	VCA appearance
500 U/mL +++	5	Dark circle	5	Dark circle
280 U/mL +	5	Light circle	5	Pale circle
30 U/mL -	5	No spot	5	No spot

4. Reproducibility Heterophile antibody dots

Reproducibility was performed on 3 samples ranges: strongly positive, positive and negative for IgG anti-EBNA dots:

PBD level	INTRA-ASSAY		INTER-ASSAYS	
	N	Heterophile appearance	N	Heterophile appearance
+++	5	Dark circle: level 1 + 2	5	Dark circle: level 1 + 2
+	5	Pale circle: level 1	5	Pale circle: level 1
-	5	No spot:	5	No spot

REFERENCES

US Patent 247,934 (MA Fletcher)

Biggar RJ, W Henle, G Fleisher, J Bocker, ET Lennette, G Henle 1978. Primary Epstein-Barr virus infections and African infants. I. Decline of maternal antibodies and time of infection Int J Cancer 22:239.

Biggar RJ, G Henle, J Bocker, ET Lennette, G Fleisher, W Henle 1978. Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. II. Clinical and serological observations during seroconversion. Int J Cancer 22: 244.

Fleisher G, W Henle, G Henle, ET Lennette, RJ Biggar 1979. Primary Epstein-Barr virus infection in American infants: Clinical and serological observations. J Infect Dis 139: 553.

Sumaya CV, Y Ench 1985. Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis in Children II. Heterophil Antibody and Viral-Specific Responses. Pediatrics 75:1011.

Lennette ET 1995. Epstein-Barr Virus (EBV). In Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections, 7th Ed.(EH Lennette, DA Lennette, ET Lennette) American Public Health Association, Washington D.C.

Lennette ET, L Rymo, Y Mohan, G Masucci, K Merk, L Timar, G Klein 1993. Disease-related Differences in Antibody Patterns Against EBV-encoded Nuclear Antigens EBNA 1, EBNA 2 and EBNA 6. Eur J Cancer 29A: 1584.

Friedman HM 1981. Cytomegalovirus: subclinical infection or disease? Am J Med 70:215.

Lajo A, C Borque, F Del Castillo, A Martin-Ancel 1994. Mononucleosis caused by Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in children: a comparative study of 124 cases. Pediat Infect Dis J 13:56.

Evans AS 1969. Infectious mononucleosis and other mono-like syndromes. N Eng J Med 286:836.

Hofgartner WT, SR Swanzy, RM Bacina, J Condon, M Gupta, PE Matlock, DL Bergeron, JJ Plorde, TR Fritsche 1997. Detection of Immunoglobulin G (IgG) and IgM Antibodies to Toxoplasma gondii: Evaluation of Four Commercial Immunoassay Systems. J Clin Micro 35:3313.

SYMBOLS USED



EC Declaration of conformity



Rapid test



In Vitro Diagnostic Device



Catalogue number



Lot Number



Expiry Date



Number of test



Consult Instructions



Temperature limitation



Biological risk



Contains sodium azide



Reconstitute with

SUMMARY OF METHOD

SETUP	<ul style="list-style-type: none"> • Turn on and prepare the workstation (according to the model). The temperature in vessels must lie within +44°C and +48°C. • Insert the strip in the distilled water bath (Wash) for 30 seconds. • Pipet: <ul style="list-style-type: none"> - 2 mL of diluent (#1) into reaction vessel #1 - 2 mL of enhancer (#2) into reaction vessel #2 - 2 mL of conjugate (#3) into reaction vessel #3 • Incubate for 10 min. 	INCUBATION 10 minutes
1. INCUBATION OF SERA	<ul style="list-style-type: none"> • Add 10 µL of sample sera or positive control to vessel #1. • Immerse strip in reaction vessel #1. • Mix using a swift up and down motion 10 times. • Incubate for 60 min. 	INCUBATION 60 minutes
2. WASH STEP	<ul style="list-style-type: none"> • Wash the strip in the Wash (distilled water) using a swift back and forth motion from left to right so that the water diffuses completely through the membrane. • Blot the assay strip on an absorbent towel. 	10 seconds
3. ENHANCER	<ul style="list-style-type: none"> • Place strip into vessel #2. • Mix using a swift up and down motion 10 times. • Incubate for 5 min. 	INCUBATION 5 minutes
4. WASH STEP	<ul style="list-style-type: none"> • Wash the in the Wash (distilled water) using a swift back and forth motion from left to right so that the water diffuses completely through the membrane. • Blot the assay strip on an absorbent towel. 	10 seconds
5. CONJUGATE	<ul style="list-style-type: none"> • Place strip into vessel #3. • Mix using a swift up and down motion 10 times. • Incubate for 30 min. • At the start of this incubation, place 2 mL of reagent #4 into vessel #4. 	INCUBATION 30 minutes
6. WASH STEP	<ul style="list-style-type: none"> • Wash the strip in the Wash (distilled water) using a swift back and forth motion from left to right so that the water diffuses completely through the membrane. • Immerse the strip in the Wash (distilled water). Let stand 5 minutes. • Blot the assay strip on an absorbent towel. 	10 seconds then INCUBATION 5 minutes
7. DEVELOPER	<ul style="list-style-type: none"> • Place strip into vessel #4. • Mix using a swift up and down motion 10 times. • Incubate for 5 min. 	INCUBATION 5 minutes
8. WASH STEP	<ul style="list-style-type: none"> • Wash the strip in the Water (distilled water) using a swift back and forth motion from left to right so that the water diffuses completely through the membrane. 	10 seconds
9. DRY STEP	<ul style="list-style-type: none"> • Remove the residual water with absorbent paper, and let dry before interpreting the result. 	WAIT 5 minutes

BioMédical Diagnostics SA



Office

Actipole 25
4 blvd de Beaubourg
77435 Marne la Vallée Cx2
France

Tel : 33 1 64 62 10 12
Fax : 33 1 64 62 09 66

E-mail : support@bmd-net.com
Internet : www.bmd-net.com