

1. Uso previsto

El test NADAL® Mononucleosis es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos heterófilos del virus de Epstein-Barr (VEB) en sangre completa, suero o plasma humanos. Este test sirve para ayudar en el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa (MI) y solo está indicado para el uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

La mononucleosis infecciosa (MI) está causada por el virus Epstein-Barr (VEB), que forma parte de la familia del virus herpes. Los síntomas de la MI son: fiebre, dolor de garganta y ganglios linfáticos inflamados. En casos muy raros, pueden producirse problemas en el corazón o en el sistema nervioso central. El diagnóstico de la MI se determina en base a la presencia de anticuerpos heterófilos anti-VEB. Estos anticuerpos pertenecen al tipo IgM. Están presentes en el 80-90% de los casos de MI aguda y se pueden detectar en el 60-70% de los pacientes durante la primera semana de la enfermedad clínica.^{1,2,3,4}

El test NADAL® Mononucleosis es un test simple que utiliza un extracto de eritrocitos bovinos para detectar, cualitativa y selectivamente, anticuerpos heterófilos anti-VEB en sangre completa, suero o plasma en cuestión de minutos.

3. Principio del test

El test NADAL® Mononucleosis es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos heterófilos del virus de Epstein-Barr (VEB) en sangre completa, suero o plasma.

En este test, los antígenos extraídos de eritrocitos bovinos se encuentran inmovilizados en la región de la línea de test del casete. Durante la prueba, la muestra reacciona con otros antígenos extraídos de eritrocitos bovinos que recubren partículas aplicadas en la almohadilla de conjugado. La mezcla migra cromatográficamente a lo largo de la membrana e interactúa con los antígenos inmovilizados. Si la muestra contiene anticuerpos heterófilos anti-VEB, aparecerá una línea coloreada en la región de test, indicando un resultado positivo. Si la muestra no contiene anticuerpos heterófilos anti-VEB, no aparecerá la línea coloreada en la región de test, lo que indicará un resultado negativo.

Como control del procedimiento, debe aparecer siempre una línea coloreada en la región de control (C), indicando que el volumen de muestra ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 casetes de test NADAL® Mononucleosis con pipetas desechables incluidas
- 1 búfer
- 1 control positivo (plasma humano diluido que contiene anticuerpos heterófilos anti-VEB, azida de sodio al 0,09%)
- 1 control negativo (plasma humano diluido, azida de sodio al 0,09%)
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Recipientes para recolectar la muestra
- Centrifugadora (para suero/plasma)

- Cronómetro
- Lanceta (solo para sangre completa obtenida por punción digital)
- Tubos capilares desechables heparinizados y goteros dispensadores (solo para sangre completa obtenida por punción digital), si fueran necesarios.

6. Almacenamiento y conservación

Almacene el kit de test a 2-30 °C y utilícelo antes de la fecha de caducidad impresa en el envase. Los casetes de test se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Manténgalos en su envase sellado hasta su uso. No congele el kit. No utilice los test después de su fecha de caducidad.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice el kit de test si el envase está dañado.
- No reutilice los dispositivos.
- No añada muestras en el área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados) para evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente recolector para cada una.
- No coma, beba o fume en la zona donde se manipulan de las muestras y los kits de test.
- Utilice ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la correcta eliminación de las muestras.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® Mononucleosis se puede realizar utilizando sangre completa (obtenida por punción venosa o digital), suero o plasma.

Para recolectar muestras de sangre completa por punción venosa:

Recolecte las muestras de sangre con anticoagulantes (sodio o heparina de litio, potasio o EDTA de sodio, oxalato de sodio, citrato de sodio) siguiendo los procedimientos estándar de laboratorio.

Para recolectar muestras de sangre completa por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua templada o límpiela con un hisopo con alcohol. Déjela secar.
- Masajea la mano, sin tocar el lugar de la punción, frotándola hacia a la punta del dedo medio o anular.
- Pinche la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
- Frote suavemente la mano desde la muñeca hacia la palma y hasta la punta del dedo de modo que se forme una gota redonda de sangre en la zona de punción.

Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Utilice solo muestras claras no hemolizadas.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8 °C hasta 3 días. Para un almacenamiento de larga duración, debe conservarlas por debajo de -20 °C. La sangre completa recolectada por punción venosa se debe almacenar a 2-8 °C siempre que el test se realice en los 2 días siguientes a la recolección. No congele las muestras de sangre completa. Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar la prueba inmediatamente. Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y mezcladas bien antes de realizar la prueba. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado. Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones vigentes para el transporte de agentes etiológicos.

9. Procedimiento del test

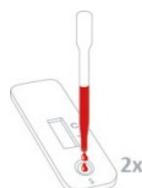
Lleve los test, búfer, muestras y/o controles a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba.

1. Retire el casete de test de su envase sellado y colóquelo sobre una superficie limpia y plana. El casete se debe utilizar inmediatamente después de abrir el envase de aluminio. Etiquételo con la identificación del paciente o del control.

2. **a) Para muestras de suero o plasma:**
Sujetando la pipeta verticalmente, añada 1 gota (aprox. 25 µL) de suero o plasma al pocillo del casete (S).



- b) Para muestras de sangre completa obtenidas por punción venosa:**
Sujetando la pipeta verticalmente, añada 2 gotas (aprox. 50 µL) de sangre completa al pocillo del casete (S).



- c) Para muestras de sangre completa obtenidas por punción digital:**
Coloque el extremo del tubo capilar sobre la sangre hasta llenarlo con aproximadamente 50 µL. Evite la formación de burbujas. Coloque la perilla en el extremo del tubo capilar



y apriétela para dispensar la muestra de sangre completa en el pocillo del casete (S).

3. Sosteniendo el botecito de búfer verticalmente añada 1 gota (aprox. 55 µL) de búfer al pocillo del casete (S).
4. Active el cronómetro.
5. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) coloreada(s). Lea los resultados del test tras 5 minutos. No interprete los resultados pasados más de 10 minutos.

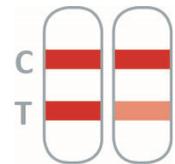


5 min

10. Interpretación del resultado

Positivo:

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una en la región de la línea de control (C) y la otra en la región de la línea de test (T).



Nota:

La intensidad del color en la región de la línea de test (T) puede variar en función de la concentración de anticuerpos anti-VEB presentes en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de test (T) se debe considerar positiva.

Negativo:

Aparece una línea coloreada en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en la región de la línea de test (T).



No válido:

No aparece la línea de control (C). Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test se deben descartar. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete de test contiene un control interno del procedimiento.

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de la muestra ha sido el adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

Procedimiento operativo para el análisis del control de calidad externo

1. Sostenga cada bote en posición vertical, añada 1 gota (aprox. 40 µL) de solución de control positivo o negativo en el pocillo del casete (S). A continuación, sosteniendo el botecito en posición vertical, añada 1 gota (aprox. 55 µL) de búfer al pocillo del casete (S).
2. Continúe con el paso 4 del 'Procedimiento de test'.
3. Si los controles no producen los resultados esperados, no utilice los resultados obtenidos. Repita el test o contacte con su distribuidor.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Mononucleosis solo es apto para el uso de diagnóstico *in-vitro*. El test se debe utilizar únicamente para la detección de anticuerpos anti-VEB en muestras de sangre completa, suero o plasma. Este test cualitativo no detecta ni la cantidad ni el aumento de la concentración de anticuerpos anti-VEB.
- El test NADAL® Mononucleosis solo detecta la presencia de anticuerpos anti-VEB en la muestra y no se debe utilizar como único criterio para el diagnóstico de una infección por mononucleosis.
- Al igual que con todos los test de diagnóstico, los resultados obtenidos se deben interpretar junto con otra información clínica disponible por el médico.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por MI.

13. Resultados esperados

La infección con el virus de Epstein-Barr (VEB) en adolescentes o adultos jóvenes causa mononucleosis infecciosa (MI) en el 35-50% de los casos notificados.^{1,5} La incidencia de MI asociada a VEB en los EE.UU. se ha estimado en 45 por 100.000 y es la más alta en adolescentes y adultos jóvenes, aproximadamente 2 de cada 1.000. No existe un patrón estacional para la infección por VEB. El periodo de incubación es de 10 a 60 días, mientras que en niños y adolescentes es habitualmente de 7 a 14 días.

14. Características del rendimiento

Sensibilidad

Se ha evaluado el test NADAL® Mononucleosis con muestras confirmadas positivas o negativas por un test de aglutinación en portaobjetos disponible comercialmente. El test de aglutinación en portaobjetos sirvió como método de referencia para el test NADAL® Mononucleosis. El resultado muestra que la sensibilidad del test NADAL® Mononucleosis es >99,9% en relación al test de aglutinación en portaobjetos.

Especificidad

El test NADAL® Mononucleosis utiliza antígenos altamente específicos para los anticuerpos anti-VEB en sangre completa, suero o plasma. Los resultados muestran que la especificidad del test NADAL® Mononucleosis es 98,9% en relación al test de aglutinación en portaobjetos.

Test NADAL® Mononucleosis frente a test de aglutinación en portaobjetos.

		Test de aglutinación en portaobjetos		
		Positivo	Negativo	Total
Test NADAL® Mononucleosis	Positivo	60	1	61
	Negativo	0	89	89
	Total	60	90	150

Sensibilidad relativa: >99,9% (95,1% - 100%)*

Especificidad relativa: 98,9% (94% - 99,9%)*

Concordancia general: 99,3% (96,3% - 99,9%)*

*95% intervalo de confianza

Sustancias interferentes

Se añadieron los siguientes analitos a las concentraciones indicadas a muestras de plasma y suero negativas y medianamente positivas (confirmadas con ELISA) y se analizaron por triplicado.

Analito	Concentración
Ácido ascórbico	20 mg/mL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Ácido gálico	20 mg/dL
Ácido oxálico	60 mg/dL
Bilirrubina	1000 mg/dL
Ácido úrico	20 mg/mL
Acetaminofeno	20 mg/dL
Ácido acetilsalicílico	20 mg/dL
Metanol	10%
Creatina	200 mg/dL
Albúmina	2000 mg/dL
Cafeína	20 mg/dL

Los analitos no mostraron ninguna interferencia con el test NADAL® Mononucleosis. No hubo diferencias evidentes entre los resultados obtenidos con tres lotes de test.

Precisión

Variabilidad interlote e intralote

Se analizaron tres lotes independientes de test NADAL® Mononucleosis con muestras de suero y plasma negativas así como débilmente, medianamente y altamente positivas en determinaciones de 10 veces. Todos los resultados cumplieron con las expectativas. No se obtuvieron resultados divergentes dentro de las determinaciones de 10 veces o entre los diferentes lotes.

Reacciones cruzadas

Se analizaron las muestras positivas para los siguientes parámetros con el test NADAL® Mononucleosis:

FR	VHC
HBsAg	TB
HBeAg	VIH
HBeAb	Sífilis
HBcAb	

No se observaron reacciones cruzadas, lo cual indica que el test NADAL® Mononucleosis tiene un alto grado de especificidad con los anticuerpos anti-VEB humanos.

15. Referencias

1. Hickey SM, Strasburger VC. *What Every Pediatrician Should Know About Infectious Mononucleosis In Adolescents*. *Pediatr Clin North Am*. 1997;44(6):1541-56.
2. Omori M. Mononucleosis <http://www.emedicine.com/EMERG/topic309.htm>
3. Linde A. Diagnosis of Epstein-Barr-Virus-related diseases. *Scand J Infect Dis Suppl*. 1996; 100:83-8.
4. Papesch M, Watkins R. *Epstein-Barr-Virus infectious mononucleosis*. *Clin Otolaryngol*. 2001; 26(1):3-8.
5. CDC National Center for Infectious Diseases. EBV & IM: <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/ebv.htm>

Rev. 0, 2016-11-14 GP