

MONOSPOT[®] Latex

REF

776150

IVD**Rx Only****INTENDED USE**

MONOSPOT Latex is a one step rapid latex particle agglutination test for the qualitative and semiquantitative determination of infectious mononucleosis heterophile antibodies in serum or plasma. MONOSPOT Latex aids in the diagnosis of infectious mononucleosis.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Infectious mononucleosis is an acute infectious disease of viral etiology. The most frequent symptoms are fever, sore throat, tender lymphadenopathy, anorexia, malaise, headache and myalgia. Splenomegaly occurs in most patients. A macular, maculopapular or petechial rash occurs in up to 50% of the cases, but such rashes occur most commonly in patients who have been treated with ampicillin.

The complications of infectious mononucleosis include secondary bacterial pharyngitis, rupture of the spleen, autoimmune hemolytic anemia, autoimmune thrombocytopenia, myocarditis, hepatitis and central nervous system involvement with meningoencephalitis or transverse myelitis. Fatal fulminant infectious mononucleosis or acquired hypogammaglobulinemia is rarely seen.

The diagnosis made on clinical history and symptomatology alone is difficult. Numerous cases in which infectious mononucleosis has been misidentified with other non-related viral and bacterial diseases have been cited.¹ For this reason, hematologic and serologic tests are very helpful in diagnosis. In 1932, Paul and Bunnell² noted that sera from patients with infectious mononucleosis have heterophile antibodies to sheep erythrocytes. Also described were agglutinins to red blood cells from other mammals.^{3,4}

The proteins responsible for this agglutination are glycoproteins from red cell membranes called Paul-Bunnell antigen by several authors. Studies made on these glycoproteins show that those purified from bovine red blood cells are the most sensitive to infectious mononucleosis heterophile antibodies. Heterophile antibodies to sheep erythrocytes (which are different from those present during infectious mononucleosis), may also be detected in sera from normal people, from individuals who have received injections of serum, and others.^{3,5}

Traditionally the infectious mononucleosis heterophile antibodies have been distinguished from other heterophile antibodies by a "differential" absorption test^{6,7} with bovine red blood cells and guinea pig kidney tissue. Now, the use of the purified Paul-Bunnell antigen attached to latex particles provides a simple method with improved sensitivity for the specific detection of heterophile antibodies associated with infectious mononucleosis.

In 1968 the etiologic agent of infectious mononucleosis was described.⁸ It was called the Epstein-Barr virus (EBV), a member of the herpes virus group. Subsequently, several serologic techniques involving EBV-related antigens have been developed.

The mode of transmission of infectious mononucleosis appears to be intimate salivary contact, salivary contamination of eating and drinking vessels and airborne dissemination of EBV.⁹

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The MONOSPOT Latex reagent is a suspension of polystyrene latex particles of uniform size coated with highly purified Paul-Bunnell antigen from bovine red cell membranes. The degree of purity of the antigen is such that MONOSPOT Latex only reacts with infectious mononucleosis heterophile antibodies. For this reason, "differential" absorptions are not necessary. Latex particles allow visual observation of the antigen-antibody reaction. If infectious mononucleosis heterophile antibodies are present in either serum or plasma, the latex suspension changes its uniform appearance and a clear agglutination becomes evident.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. **Latex Reagent** – Suspension of polystyrene latex particles coated with Paul-Bunnell antigen in a buffer. Contains < 0.1% sodium azide.
2. **Positive Control** – Rabbit IgG anti-Paul-Bunnell antigen diluted in a buffer. Contains < 0.1% sodium azide.
3. **Negative Control** – Nonreactive diluted human serum. Contains < 0.1% sodium azide.
4. **Pipettestirs**
5. **Test Slides**

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Normal saline (0.9% NaCl, only for semiquantitative technique)
2. Automatic pipettes
3. Timer
4. Rotator
5. Stirrers

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. To assure proper delivery the reagent dropper must be held vertically and a single drop allowed to fall.
3. The reagents in this kit contain sodium azide as a preservative. Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion. Flush drains with water thoroughly after disposing of fluids containing sodium azide.

WARNING: POTENTIALLY BIOHAZARDOUS MATERIAL.

Each human source material used in the preparation of this material was tested by an FDA approved method for the presence of the antibody to HIV I and II and HCV antibodies as well as for HBsAg and found to be negative.

Because no test method can offer complete assurance of the absence of infectious agents, the reagents should be handled carefully.¹⁰ Dispose all used materials in a suitable biohazardous waste container.

HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

 MONOSPOT Detection Latex MONOSPOT Negative Control MONOSPOT Positive Control	Signal Word Danger Precautionary Statements - EU (§28, 1272/2008) P301 + P310 - IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/ physician
---	---

SHELF LIFE AND STORAGE

1. The Latex Reagent and the controls will remain stable through the expiration date shown on the label if stored between 2 and 8 C. Do not freeze. The reagents can be damaged by improper handling, especially temperature extremes.
2. Checking the Latex Reagent with the positive and negative controls provided will permit detection of reagent deterioration. The reagents should not be used after the expiration date shown on the label.
3. The Latex Reagent, once shaken, must be uniform without visible clumping.
4. When stored, a slight sedimentation may occur and should be considered normal.
5. Do not use the Latex Reagent or controls if they become contaminated.
6. The reagent dropper dispenses drops of 28 µL ± 10%. The dropper must be held perpendicular to the slide surface and a single drop allowed to fall. Do not use another dropper without previously checking the volume of the drop.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**SERUM:**

Use fresh serum collected by centrifuging clotted blood. If the test cannot be carried out on the same day, serum may be stored between 2 and 8 C for no longer than 48 hours after collection. For longer periods the sample must be frozen (-20 C or below).

PLASMA:

Collect blood into a tube containing anticoagulant (EDTA). Other anticoagulants should be evaluated before use. Centrifuge to separate plasma from cellular elements. Test the specimen within 24 hours of blood collection. Do not use hemolyzed or contaminated samples.

TEST PROCEDURE**QUALITATIVE TECHNIQUE**

1. Allow the Latex Reagent and controls to reach room temperature (20 to 30 C).
2. Gently shake the Latex Reagent vial to disperse and suspend the latex particles in the buffer solution. Vigorous shaking should be avoided.
3. Place 50 µL of the sample (or one drop of control) on one section of the disposable slide.
4. Shake the reagent vial and add one drop of Latex Reagent next to the drop of sample.
5. Mix both drops with a stirrer covering the whole surface of the slide section.
6. Gently rotate the slide for 3 minutes manually or on a rotary shaker set at 80-100 rpm.
7. Look for the presence or absence of agglutination after the aforementioned period of time.

SEMIQUANTITATIVE TECHNIQUE

Allow the Latex Reagent to reach room temperature (20 to 30 °C). Prepare the sample dilutions on 2 slides (see descriptive diagram):

1. Place 50 µL of normal saline on slide sections 2 through 6.
2. Using an automatic pipette, place 50 µL of the sample on slide sections 1 and 2.
3. Using the same pipette, take in and release the sample and the normal saline in section 2 several times until they are well mixed.
4. Take 50 µL of the mixture made on section 2 and transfer it to section 3.
5. Repeat the aforementioned operations to obtain a thorough mixing of reagents, transferring 50 µL from section 4 and so on, in succession, through section 6, thereafter discarding 50 µL.

SECTION	1	2	3	4	5	6
SALINE µL	—	50	50	50	50	50
SAMPLE µL	50	50	50	50	50	50
MIX and TRANSFER		↓ 50	↑ 50	↓ 50	↑ 50	↓ 50
DILUTION	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32

6. Gently shake the Latex Reagent vial and place a drop on section 1 through 6 of the slides containing the different sample dilution.
7. Mix both drops using a stirrer covering the whole surface of the slide section.
8. Gently rotate the slide for 3 minutes manually or on a rotary shaker set at 80-100 rpm.
9. Look for the presence of agglutination after the aforementioned period of time.

INTERPRETATION OF RESULTS

QUALITATIVE TECHNIQUE

The presence of agglutination indicates a clinically significant concentration of infectious mononucleosis heterophile antibodies in the sample.

SEMIQUANTITATIVE TECHNIQUE

The approximate titer will correspond to the highest sample dilution that still presents a clearly visible agglutination (see diagram).

POSITIVE REACTIONS

- 3+ Large clumping with clear background.
- 2+ Moderate clumping with fluid slightly opaque in background.
- 1+ Small clumping with opaque fluid in background.

NEGATIVE REACTIONS

No visible clumping, uniform suspension.

QUALITY CONTROL

This test should be performed by applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

Control of the latex reagent:

1. Before performing a set of determinations it is advisable to test the latex reagent with each of the controls, positive and negative, included in the kit.
2. Both controls should be used following the steps outlined in the QUALITATIVE TECHNIQUE.
3. The reaction between the Positive Control and the Latex Reagent should show a clear agglutination, different from the uniform appearance of the negative control.

If the expected control reactions are not observed, repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.

EXPECTED VALUES

Studies^{11, 12} on the presence of infectious mononucleosis heterophile antibodies in normal donors show the incidence of the disease in from 0.9 to 1.7% of the population. As the presence of antibodies indicates a relatively recent infection these results suggest that the true incidence of the disease is higher than the diagnosed cases.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. As with all diagnostic assays, the results of the MONOSPOT Latex assay should be interpreted in light of the clinical symptoms shown by the patient.
2. Occasionally detectable levels of heterophile antibodies are late in developing in patients symptomatic for infectious mononucleosis. If symptoms persist it is recommended to repeat the assay in several days. Some patients may remain persistently negative, especially children and adolescents. It has been reported that only 80 to 90% of adults and less than 50% of young children develop heterophile antibodies.
3. Detectable levels of heterophile antibodies may persist for months, and more rarely for years, in some individuals.
4. Although titers of heterophile antibodies have little relation with the severity of infection, the semiquantitative procedure can be used to follow the evolution of the disease.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Evaluations comparing MONOSPOT Latex to a commercially available differential hemagglutination test were performed to determine the sensitivity and specificity of the reagent.¹³ A differential hemagglutination slide test was used to identify 106 positive and 114 negative sera for the study. Discrepancies between the results given by MONOSPOT Latex and the hemagglutination test were resolved using Epstein-Barr Virus (EBV) specific serological assays.

In these assays, the titers of specific antibodies to the EBV capsid antigen (both IgG and IgM), EBV early antigen (both diffused -D- and restricted -R-) and EBV nuclear antigen were determined. The results of these assays specified whether EBV infections were recent or acute (in which case the sera was considered positive), or if antibodies were absent or relics of an old infection (in which case the serum was considered negative). Twelve of the 100 nondiscrepant positive sera and five of the 106 nondiscrepant negative sera were also analyzed using these same EBV specific serological assays. In all cases the EBV specific assay confirmed the positivity or negativity of the samples.

Compared with hemagglutination, MONOSPOT Latex was found to have a sensitivity of 94% and a specificity of 93%. Assuming that the concordant results of the EBV serology performed on nondiscrepant sera applies to all the samples tested, it can be inferred that the sensitivity of MONOSPOT Latex relative to EBV specific tests is 99% and its specificity relative to the same is 93%. There was only one result negative with MONOSPOT Latex, and positive with EBV serology. It was determined to be a recent infection and not an acute infection due to the absence of anti-VCA IgM and nuclear antigen. For this reason this negative result cannot be interpreted as prozone effect.

In a separate study MONOSPOT Latex was compared to a qualitative horse red cell slide test involving a total of 224 EDTA plasma samples. There was complete agreement in test results which included 51 positive and 173 negative samples. Overall, the results of this study indicate clearly that MONOSPOT Latex is highly sensitive and specific for the diagnosis of infectious mononucleosis.

A panel of 10 positive serum samples was tested on three consecutive days using the semiquantitative technique. The results of the study indicate that MONOSPOT Latex has 100% precision. The error of repeated titrations was expected to be only one doubling dilution.

MONOSPOT[®] Latex

REF

776150

IVD

Rx Only

FINALITÀ D'USO

MONOSPOT Latex è un test rapido, monofase, di agglutinazione a particelle di lattice, per la determinazione qualitativa e semiquantitativa degli anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva su siero o plasma. MONOSPOT Latex aiuta nella diagnosi della mononucleosi infettiva.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La mononucleosi infettiva è una malattia infettiva acuta di eziologia virale. I sintomi più frequenti sono: febbre, faringite dolorosa, linfadenopatia lieve, anoressia, malessere, mal di testa e mialgia. L'ingrossamento della milza si osserva nella maggior parte dei pazienti. Rash maculare, maculopapulare o petecchiale si verifica fino ad un massimo del 50% dei casi, sebbene questi rash si manifestino con maggiore frequenza nei pazienti che sono stati curati con ampicillina.

Le complicazioni della mononucleosi infettiva comprendono: faringite batterica secondaria, rottura della milza, anemia emolitica autoimmune, trombocitopenia autoimmune, miocardite, epatite e coinvolgimento del sistema nervoso centrale con, meningoencefalite o mielite trasversa. Mononucleosi infettiva fulminante mortale o ipogammaglobulinemia acquisita sono raramente osservate.

La diagnosi basata solamente sulla storia clinica e la sintomatologia del paziente è difficile. Sono citati numerosi casi in cui la mononucleosi infettiva è stata erroneamente identificata con altre patologie virali e batteriche non correlate.¹ Per questo motivo, test ematologici e sierologici sono stati molto utili per la diagnosi. Nel 1932, Paul e Bunnell² videro che i sieri di pazienti con mononucleosi infettiva hanno anticorpi eterofili diretti contro eritrociti ovini. Sono state anche identificate agglutinine dirette contro eritrociti di altri mammiferi.^{3,4}

Le proteine responsabili di questa agglutinazione sono glicoproteine di membrana di eritrociti, chiamate, da diversi autori, antigene Paul-Bunnell. Studi eseguiti dimostrano che le glicoproteine purificate da eritrociti bovini sono più sensibili agli anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva. Anticorpi eterofili diretti contro eritrociti di pecora (che sono diversi da quelli presenti durante la mononucleosi infettiva) possono anche essere determinati in sieri di persone normali, da individui che hanno ricevuto iniezioni da siero o altro.^{3,5}

Tradizionalmente, gli anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva sono distinti da altri anticorpi eterofili con un test "differenziale" di assorbimento^{6,7} con eritrociti di bovino e tessuto renale di porcellino d'India. Oggi, l'uso dell'antigene Paul-Bunnell purificato legato a particelle di lattice fornisce un metodo semplice e con maggiore sensibilità per la determinazione specifica degli anticorpi eterofili associati alla mononucleosi infettiva.

Nel 1968 è stato descritto l'agente eziologico della mononucleosi infettiva.⁸ È stato chiamato il virus Epstein-Barr virus (EBV), un membro della famiglia dei virus dell'herpes. Successivamente, sono state sviluppate diverse tecniche sierologiche riguardanti antigeni correlati all'EBV.

Il modo in cui la mononucleosi infettiva si trasmette sembra essere il contatto salivare intimo, la contaminazione salivare di piatti e bicchieri e la disseminazione aerea dell'EBV.⁹

PRINCIPI BIOLOGICI

Il reagente MONOSPOT Latex è una sospensione di particelle di lattice di polistirene di dimensione uniforme, rivestite da antigene Paul-Bunnell altamente purificato, ottenuto da membrane di eritrociti bovini. Il grado di purezza dell'antigene è tale che il MONOSPOT Latex reagisce solo con gli anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva. Per questa ragione, assorbimenti "differenziali" non sono necessari. Le particelle di lattice permettono un'osservazione visiva della reazione antigene-anticorpi. Se gli anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva sono presenti nel siero o nel plasma, l'aspetto della sospensione di lattice cambia da uniforme ad un'agglutinazione evidente.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

1. **Reagente Lattice** – Sospensione di particelle di lattice di polistirene rivestite con antigene Paul-Bunnell in una soluzione tampone. Contiene < 0,1% sodio azide.
2. **Controllo Positivo** – IgG di coniglio contro l'antigene di Paul-Bunnell diluito in un tampone. Contiene < 0,1% di sodio azide.
3. **Controllo Negativo** – Siero umano non reattivo diluito. Contiene < 0,1% sodio azide.
4. **Miscelatori per pipette**
5. **Vetrini per test**

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

1. Soluzione salina (0,9% NaCl, solo per la tecnica semiquantitativa)
2. Pipette automatiche
3. Cronometro
4. Agitatore rotante
5. Bastoncini

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. Il dispensatore deve essere messo in verticale rispetto al piano di lavoro. Deve essere dispensata una goccia alla volta.
3. I reagenti di questo kit contengono azide di sodio come conservante. L'azide di sodio può reagire con il piombo o con il rame delle tubature del laboratorio, formando composti altamente esplosivi. Dopo la scarica di liquidi contenenti azide di sodio, lavare abbondantemente con acqua le tubature per evitare l'accumulo dell'azide di sodio.

AVVERTENZA: MATERIALE BIOLOGICO POTENZIALMENTE PERICOLOSO

Il siero umano utilizzato nella preparazione di questo kit è risultato, in base a metodi approvati dalla FDA, negativo per la ricerca di anticorpi anti-HIV I/II, anti-HDV e HBsAg.

Comunque, poiché nessun metodo oggi conosciuto può garantire la totale assenza di agenti infettivi, ogni reagente del kit deve essere considerato potenzialmente infettivo e si deve trattare con cura.¹⁰ Depositare tutti i materiali utilizzati in recipienti idonei per materiale biocontaminante.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

 MONOSPOT Detection Latex MONOSPOT Negative Control MONOSPOT Positive Control	avvertenza Pericolo Consigli di Prudenza - UE (§28, 1272/2008) P301 + P310 - IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico
---	---

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

1. Il reagente Lattice e i materiali di controllo rimangono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se conservati a 2-8 °C. Non congelare. I reagenti possono venire danneggiati da manipolazione impropria, specialmente a temperature estreme.
2. Il deterioramento dei reagenti può essere rilevato dalla verifica del reagente Lattice con i controlli negativo e positivo forniti. Non usare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta.
3. Il reagente Lattice, una volta agitato, deve risultare uniforme, senza precipitati apparenti.
4. In conservazione, può verificarsi una leggera sedimentazione, da considerarsi come fatto normale.
5. Non usare il reagente Lattice o i controlli se diventano contaminati.
6. Il contagocce del reagente emette gocce di 28 µL ± 10%. Il contagocce deve essere tenuto in posizione perpendicolare rispetto alla superficie del vetrino e deve essere dispensata una sola goccia. Non usare un altro contagocce senza aver prima controllato il volume della goccia.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

SIERO:

Usare siero fresco raccolto centrifugando sangue coagulato. Se il test non può essere eseguito lo stesso giorno, conservare il siero a 2-8 °C per non più di 48 ore dalla raccolta. Per periodi più lunghi, il campione deve essere congelato (almeno a -20 °C).

PLASMA:

Raccogliere il sangue in una provetta contenente anticoagulante (EDTA). Altri coagulanti devono essere valutati prima dell'uso. Centrifugare per separare il plasma da elementi cellulari. Eseguire il test dei campioni entro 24 ore dalla raccolta del sangue. Non usare campioni emolizzati o contaminati.

PROCEDURA DEL TEST

TECNICA QUALITATIVA

1. Attendere che il reagente Lattice e i controlli raggiungano la temperatura ambiente (20-30 °C).
2. Agitare delicatamente la fiala del reagente Lattice per disseminarlo e sospendere le particelle Lattice nella soluzione tampone. Non agitare vigorosamente.
3. Mettere 50 µL di campione (o una goccia di controllo) in una sezione del vetrino.
4. Agitare la fiala di reagente e aggiungere una goccia di reagente Lattice accanto a quella del campione.
5. Miscelare entrambe le gocce con un miscelatore coprendo l'intera superficie della sezione del vetrino.
6. Ruotare lentamente il vetrino per 3 minuti, a mano oppure su un agitatore automatico regolato su 80-100 rpm.
7. Trascorsi 3 minuti, notare la presenza o assenza di agglutinazione.

TECNICA SEMIQUANTITATIVA

Attendere che il reagente Lattice raggiunga la temperatura ambiente (20-30 C). Preparare le diluizioni del campione su 2 vetrini (vedi diagramma descrittivo):

- 1. Mettere 50 µL di soluzione salina sulle sezioni del vetrino da 2 a 6.
- 2. Con una pipetta automatica, mettere 50 µL di campione sulle sezioni 1 e 2 del vetrino.
- 3. Con la stessa pipetta, prelevare e rilasciare diverse volte il campione e la soluzione salina nella sezione 2, fino a quando non sono miscelati bene.
- 4. Prendere 50 µL della miscela sulla sezione 2 e trasferirli nella sezione 3.
- 5. Ripetere le suddette operazioni fino ad ottenere una miscela completa di reagenti, trasferendo 50 µL dalla sezione 4 e così via, in successione, fino alla sezione 6. Dopo, scartare 50 µL.

SEZIONE	1	2	3	4	5	6
µL DI SOLUZIONE SALINA	—	50	50	50	50	50
µL DI SOLUZIONE CAMPIONE	50	50				
MISCELARE o TRASFERIRE		↓ 50	↑ 50	↓ 50	↑ 50	↓ 50
DILUIZIONE	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32

- 6. Agitare delicatamente la fiale del reagente Lattice e metterne una goccia sulle sezioni da 1 a 6 dei vetrini contenenti la diversa diluizione del campione.
- 7. Con un miscelatore, miscelare le due gocce, coprendo l'intera superficie della sezione del vetrino.
- 8. Ruotare lentamente il vetrino per 3 minuti, a mano o su un agitatore automatico regolato su 80-100 rpm.
- 9. Trascorsi 3 minuti, notare la presenza de agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

TECNICA QUALITATIVA

La presenza di agglutinazione indica una presenza clinicamente significativa di anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva nel campione.

TECNICA SEMIQUANTITATIVA

Il titolo approssimato corrisponde alla più alta diluizione del campione che presenta ancora un'agglutinazione chiaramente visibile (vedi diagramma).

REAZIONI POSITIVE

- 3+ Grossa agglutinazione con sfondo trasparente.
- 2+ Moderata agglutinazione con liquido leggermente opaco sullo sfondo.
- 1+ Piccola agglutinazione con liquido opaco sullo sfondo.

REAZIONI NEGATIVE

Non è visibile una sospensione di agglutinazione uniforme.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

Controllo del reagente Lattice:

- 1. Prima di eseguire un gruppo di determinazioni, si consiglia di testare il reagente Lattice con ogni controllo negativo e positivo incluso nel kit.
- 2. Entrambi i controlli devono essere usati seguendo le fasi procedurali indicate nella TECNICA QUALITATIVA.
- 3. La reazione fra il controllo positivo e il reagente Lattice deve mostrare una chiara agglutinazione, diversa dall'aspetto uniforme del controllo negativo.

Se non si ottengono i risultati attesi con i Controlli, come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test di controllo. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale, (Italia +390331433636).

VALORI ATTESI

Studi^{11, 12} sulla presenza di anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva nei donatori di normale rilevano un'incidenza della malattia nello 0,9-1,7% della popolazione. Poiché la presenza di anticorpi indica un'infezione relativamente recente, questi risultati suggeriscono che l'incidenza reale della malattia è più alta dei casi diagnosticati.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- 1. Come per tutti i test diagnostici, i risultati del test con MONOSPOT Latex devono essere interpretati alla luce dei sintomi clinici esibiti dal paziente.
- 2. Occasionalmente, i sintomi della MI sono precoci rispetto ai livelli misurabili di anticorpi eterofili. Se i sintomi persistono si raccomanda di ripetere il test alcuni giorni dopo. Alcuni pazienti rimangono negativi, specialmente bambini ed adolescenti. Hanno riscontrato una percentuale compresa tra 80-90% di adulti e meno di 50% di bambini che sviluppano anticorpi eterofili.
- 3. Livelli misurabili di anticorpi eterofili possono resistere, in alcuni individui, per mesi, e raramente per anni.
- 4. Anche se i titoli degli anticorpi eterofili ha poca relazione con la gravità dell'infezione, si può utilizzare il metodo semiquantitativo per seguire l'evoluzione della malattia.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Per determinare la sensibilità e la specificità del reagente, sono state eseguiti test differenziali di emoagglutinazione confrontando il MONOSPOT Latex con altri reagenti disponibili in commercio.¹³ Per identificare 106 sieri positivi e 114 sieri negativi per lo studio, è stato usato un test differenziale di emoagglutinazione su vetrino. Le discrepanze fra i risultati ottenuti con il test del MONOSPOT Latex ed il test di emoagglutinazione sono state risolte usando specifici test sierologici Epstein-Barr Virus (EBV).

In questi test, sono stati determinati i titoli degli anticorpi specifici contro l'antigene capsidico (sia IgG che IgM), l'antigene precoce (sia diffuso -D- che ristretto -R-) e l'antigene nucleare dell'EBV. I risultati di questi test hanno messo in rilievo se le infezioni da EBV erano recenti o acute (in questo caso i sieri sono stati considerati positivi), o se gli anticorpi erano presenti o residui di una vecchia infezione (nel qual caso il siero è stato considerato negativo). Usando gli stessi specifici test sierologici per l'EBV, sono anche stati analizzati dodici dei 100 sieri positivi non discrepanti e cinque dei 106 sieri negativi non discrepanti. In tutti i casi, il test specifico dell'EBV ha confermato la positività o la negatività dei campioni.

Confrontato con l'emoagglutinazione, il MONOSPOT Latex ha dimostrato una sensibilità del 94% ed una specificità del 93%. Assumendo che i risultati concordanti della sierologia eseguita su sieri non discrepanti si applicano a tutti i campioni testati, si può concludere che la sensibilità di MONOSPOT Latex relativamente ai test specifici per l'EBV è del 99% e la specificità relativa allo stesso test è del 93%. Vi è stato un solo risultato negativo con il MONOSPOT Latex, ed uno positivo con la sierologia EBV. È stato accertato essere un'infezione recente e non un'infezione acuta, a causa dell'assenza dell'anticorpo IgM anti-VCA e dell'antigene nucleare. Per questa ragione, questo risultato negativo non può essere interpretato come effetto prozona.

In uno studio a parte, il MONOSPOT Latex è stato confrontato rispetto ad un test qualitativo su vetrino di eritrociti equini, su un totale di 224 campioni di plasma EDTA. Per quanto riguarda i risultati dei test, che comprendevano 51 campioni positivi e 173 negativi, l'accordo è stato completo. Nel complesso, i risultati di questo studio indicano chiaramente che il MONOSPOT Latex è altamente sensibile e specifico per la diagnosi della mononucleosi infettiva.

Usando la tecnica semiquantitativa, è stato testato un pannello di 10 campioni di siero positivi per tre giorni consecutivi. I risultati dello studio dimostrano che il MONOSPOT Latex ha una precisione e del 100%. L'errore di ripetute titolazioni è stato ritenuto essere solo un raddoppio della diluizione.

MONOSPOT[®] Latex

REF

776150

IVD

Rx Only

BUT DE LA METHODE

Latex MONOSPOT est un test d'agglutination rapide, en une étape, utilisant des particules de latex pour la détermination qualitative et semi-quantitative des anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse dans le sérum ou le plasma. Le test MONOSPOT est une aide au diagnostic la mononucléose infectieuse.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

La mononucléose infectieuse est une affection aiguë d'origine virale. Les symptômes les plus fréquents sont la fièvre, les maux de gorge, une lymphadénopathie douloureuse, l'anorexie, les malaises, les maux de tête et myalgie. La splénomégalie est observée chez la plupart des patients. Un exanthème maculaire, maculopapuleux ou pétéchial survient dans 50% des cas, mais ces éruptions apparaissent de manière commune chez les patients ayant été traités à l'ampicilline.

Les complications de la mononucléose infectieuse incluent des pharyngites bactériennes secondaires, la rupture de la rate, une anémie hémolytique auto-immune, une thrombocytopénie auto-immune, une myocardite, l'hépatite et l'atteinte du système nerveux central avec méningo-encéphalite ou myélite transverse. Une mononucléose infectieuse fulminante fatale ou une hypogammaglobulinémie acquise est rarement observée.

Le diagnostic basé uniquement sur données clinique et la symptomatologie est difficile. De nombreux cas ont été observés pour lesquels une mononucléose infectieuse a été confondue à d'autres infections bactériennes ou virales sans rapport avec la mononucléose.¹ Pour cette raison, les tests sérologiques et hématologiques sont une aide importante au diagnostic. En 1932, Paul et Bunnell² ont observé que les sérums de patients souffrant de mononucléose infectieuse présentent des anticorps hétérophiles contre les érythrocytes de mouton. Des agglutinines liées aux globules rouges d'autres mammifères sont également décrites.^{3,4}

Les protéines responsables de cette agglutination sont des glycoprotéines de membranes de globules rouges appelées, par de nombreux auteurs antigène de Paul et Bunnell. De nombreuses études réalisées sur ces glycoprotéines ont montré que celles purifiées, extraites de globules rouges de bovin sont les plus sensibles aux anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse. Les anticorps hétérophiles des érythrocytes de mouton (qui diffèrent de ceux présents durant une mononucléose infectieuse) peuvent également être détectés dans les sérums de sujets sains, de personnes ayant reçu des injections de sérum, et autres.^{3,5}

Traditionnellement, les anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse se distinguent des autres anticorps hétérophiles par un test^{6,7} "différentielle" en présence de globules rouges de bovin et de tissu rénal de cochon d'Inde. De nos jours, l'utilisation d'antigène Paul-Bunnell purifié fixé sur des particules de latex, fournit une méthode simple de bonne sensibilité pour la détection spécifique d'anticorps hétérophiles associés à la mononucléose infectieuse.

En 1968, l'agent étiologique de la mononucléose infectieuse a été décrit.⁸ Il a été nommé virus d'Epstein-Barr (EBV), un membre du groupe des virus d'herpes. Par la suite, diverses techniques sérologiques impliquant les antigènes de l'EBV ont été développées.

Le mode de transmission de la mononucléose infectieuse est lié à un contact salivaire intime ou via des ustensiles contaminés et la dissémination du virus EBV dans l'air.⁹

PRINCIPE DU TEST

Le réactif du test MONOSPOT Latex est une suspension de particules de latex de polystyrène de taille uniforme recouverte d'antigène Paul-Bunnell purifié, extrait de membranes de globules rouges de bovin. Le degré de pureté de l'antigène est tel que le test MONOSPOT Latex réagit uniquement avec les anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse, rendant les absorptions "différentielles" non nécessaires. Les particules de latex permettent d'effectuer une observation visuelle de la réaction antigène-anticorps. Lorsque des anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse sont présents dans le sérum ou le plasma, l'apparence uniforme de la suspension de latex est modifiée et une agglutination nette est observée.

MATERIAL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. **Réactif au latex** – Suspension tamponnée de particules de latex de polystyrène recouvertes d'antigène Paul-Bunnell. Ce réactif contient < 0,1% d'azide de sodium.
2. **Contrôle positif** – IgG de lapin contre l'antigène de Paul-Bunnell dilué dans un tampon. Contient < 0,1% d'azide de sodium.
3. **Contrôle négatif** – Sérum humain non réactif dilué contenant < 0,1% d'azide de sodium.
4. **Agitateurs de pipettes**
5. **Lames pour test**

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

1. Solution saline normale (NaCl à 0,9%, pour la technique semi-quantitative uniquement)
2. Pipettes automatiques
3. Chronomètre
4. Agitateur rotatif
5. Bâtonnets

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Pour assurer une bonne distribution, tenir le compte-gouttes de réactif en position verticale et verser une seule goutte.
3. Les réactifs de ce coffret contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb ou le cuivre dans des canalisations pour former des composés d'azide de métal explosifs par percussion. Si l'évacuation de ces réactifs se fait par les canalisations, rincer avec un grand volume d'eau.

ATTENTION: SUBSTANCE COMPORTANT UN RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL

Chaque sérum utilisé dans la préparation des réactifs a été testé par une méthode validée par le FDA pour la recherche des anticorps anti-HIV I/II et anti-HCV ainsi que pour celle de l'antigène de surface de l'hépatite B. Cette recherche s'est avérée négative.

Cependant aucune méthode n'offrant une assurance complète quant à l'absence d'agents infectieux, les réactifs sont à manipuler avec précaution.¹⁰ Déposer tout le matériel utilisé dans des récipients conçus pour le matériel biocontaminant.

DANGER ET MISES EN GARDE



MONOSPOT Detection Latex
MONOSPOT Negative Control
MONOSPOT Positive Control

mention d'avertissement

Danger

Conseils de prudence - UE (par 28, 1272/2008)

P301 + P310 - EN CAS D'INGESTION: appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

1. Le réactif Latex et les contrôles sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette s'ils sont conservés de 2 à 8 C. Ne pas congeler. Les réactifs peuvent être endommagés en cas de manipulation inadéquate, et tout particulièrement lorsque soumis à des températures extrêmes.
2. Il est recommandé de tester le réactif Latex avec les contrôles positif et négatif fournis, afin de détecter une éventuelle détérioration du réactif. Les réactifs ne doivent pas être utilisés au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
3. Après agitation, le réactif Latex doit être d'apparence uniforme sans agglutination visible.
4. Lors du stockage du réactif, une légère sédimentation peut survenir et doit être considérée comme normale.
5. Ne pas utiliser de contrôles ou réactifs Latex contaminés.
6. La compte-gouttes dispense des gouttes de 28 µL ± 10%. La compte-gouttes doit être tenu perpendiculairement à la surface de la lame et une seule goutte doit être déposée. Ne pas utiliser un autre compte-gouttes vérifier le volume de la goutte.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

SERUM:

Utiliser du sérum frais collecté en centrifugeant du sang coagulé. Si le test ne peut pas être réalisé le jour même, le sérum peut être conservé à 2-8 C pendant 48 heures après le prélèvement. Pour de plus longues périodes de conservation, congeler l'échantillon à un minimum de -20 C.

PLASMA:

Collecter le sang dans un tube contenant un anticoagulant (EDTA). Des anticoagulants différents doivent être évalués avant usage. Centrifuger pour séparer le plasma des éléments cellulaires. Tester l'échantillon dans les 24 heures après le prélèvement de sang. Ne pas utiliser des échantillons hémolysés ou contaminés.

PROCEDURE DU TEST

PROCEDURE QUALITATIVE

- 1. Laisser le réactif Latex et les contrôles atteindre la température ambiante (20 à 30 C).
- 2. Agiter délicatement le réactif Latex pour disperser et suspendre les particules de latex dans la solution tamponnée. Eviter d'agiter vigoureusement
- 3. Placer 50 µL de l'échantillon (ou une goutte de contrôle) sur une section de la lame à usage unique.
- 4. Agiter le flacon du réactif et ajouter une goutte de réactif Latex à côté de la goutte d'échantillon.
- 5. Mélanger les deux gouttes à l'aide d'une pipette, en recouvrant entièrement la surface de la section de la lame.
- 6. Remuer doucement la lame pendant 3 minutes à la main ou sur un agitateur rotateur réglé entre 80 et 100 rpm.
- 7. Observer la présence ou l'absence d'agglutination après le laps de temps susmentionné.

PROCEDURE SEMI-QUANTITATIVE

Laisser le réactif Latex atteindre la température ambiante (20 à 30 C). Préparer les dilutions d'échantillons sur 2 lames (voir le schéma descriptif):

- 1. Placer 50 µL de solution saline sur les sections 2 à 6 de la lame.
- 2. A l'aide d'une pipette automatique, placer 50 µL de l'échantillon sur les sections 1 et 2 de la lame.
- 3. A l'aide de la même pipette, prélever, puis relâcher plusieurs fois le mélange solution saline/échantillon dans la section 2 jusqu'à ce que le mélange soit homogène.
- 4. Prélever 50 µL du mélange de la section 2 et les transférer sur la section 3.
- 5. Répéter les opérations susmentionnées afin d'obtenir un mélange complet des réactifs, transférant 50 µL de la section 4, et ainsi de suite, jusqu'à la section 6, puis éliminer 50 µL de la section 6.

SECTION	1	2	3	4	5	6
µL DE SALINE	—	50	50	50	50	50
µL D'ECHANTILLON	50	50	—	—	—	—
MELANGER et TRANSFERER		↓ 50	↑ 50	↑ 50	↑ 50	↑ 50
DILUTION	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32

- 6. Agiter doucement le réactif latex et placer une goutte sur les sections 1 à 6 des lames contenant les différentes dilutions de l'échantillon.
- 7. Mélanger les deux gouttes à l'aide d'une pipette, en recouvrant entièrement la surface de la section de la lame.
- 8. Remuer doucement la lame pendant 3 minutes à la main ou sur un agitateur rotateur réglé entre 80 et 100 rpm.
- 9. Observer la présence d'agglutination après le laps de temps susmentionné.

INTERPRETATION DES RESULTATS

PROCEDURE QUALITATIVE

La présence d'agglutination indique une concentration cliniquement significative en anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse dans l'échantillon.

PROCEDURE SEMI-QUANTITATIVE

Le titre approximatif correspond à la plus haute dilution de l'échantillon pour laquelle une agglutination est visible (voir le schéma descriptif).

REACTIONS POSITIVES

- 3+ Agglutination importante sur fond clair.
- 2+ Agglutination modérée accompagnée d'un liquide légèrement opaque dans le fond.
- 1+ Agglutination fine sur liquide opaque en arrière fond.

REACTIONS NEGATIVES

Aucune agglutination visible, suspension uniforme.

CONTROLE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

Contrôle du réactif au latex:

- 1. Avant de réaliser les tests, il est recommandé de tester le réactif latex avec chacun des contrôles, positif et négatif, inclus dans le coffret.
- 2. Les deux contrôles sont être utilisés en suivant les étapes de la section PROCEDURE QUALITATIVE.
- 3. La réaction entre le contrôle positif et le réactif Latex doit présenter une agglutination nette qui diffère de l'apparence uniforme du contrôle négatif.

Si les réactions attendues ne sont pas observées, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.

VALEURS ATTENDUES

Des études^{11, 12} sur la présence d'anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse chez les donneurs de normale ont montré que l'incidence de la maladie est de 0,9 à 1,7% de la population. Comme la présence des anticorps indique une infection relativement récente de la maladie, ces résultats suggèrent que l'incidence réelle de la maladie est plus importante que les cas diagnostiqués.

LIMITES DU TEST

- 1. Comme avec tous les tests de diagnostic, les résultats du test MONOSPOT Latex doivent être interprétés à la lumière des symptômes cliniques montrés par le patient.
- 2. Occasionnellement, des niveaux détectable d'anticorps hétérophiles apparaissent se tardivement chez les patients symptomatiques atteints de la mononucléose infectieuse. Si les symptômes persistent, il est recommandé de répéter le test quelques jours plus tard. Certains patients ne développent pas d'anticorps hétérophiles, particulièrement les enfants et les adolescents. D'après la littérature, 80 à 90% des adultes et moins de 50% des enfants développent des anticorps hétérophiles.
- 3. Chez certains individus des concentrations détectables d'anticorps hétérophiles peuvent persister pendant des mois, et plus rarement pendant des années.
- 4. Bien que les titres d'anticorps hétérophiles ne soient pas en rapport avec la sévérité de l'infection, la procédure semi-quantitative peut être utilisée pour suivre l'évolution de la maladie.

PERFORMANCES DU TEST

Des évaluations comparant le test MONOSPOT Latex à un test commercial d'hémagglutination différentielle ont été réalisées afin de déterminer la sensibilité et la spécificité du réactif.¹³ Un test d'hémagglutination différentielle a été utilisé pour identifier 106 sérums positifs et 114 sérums négatifs pour l'étude. Les discordances entre les résultats du test MONOSPOT Latex et du test d'hémagglutination ont été résolues à l'aide de tests sérologiques spécifiques du virus d'Epstein Barr (EBV).

Dans ces tests, les titres des anticorps spécifiques de l'antigène de la capside (IgG et IgM) de l'antigène précoce (composantes diffusé -D- et restreinte -R-) et de l'antigène nucléaire de l'EBV ont été déterminés. Les résultats de ces tests ont permis de spécifier si les infections à EBV sont récentes ou aiguës (auquel cas les sérums sont considérés comme positifs), ou si les anticorps sont absents ou résultant d'une infection antérieure (auquel cas les sérums sont considérés comme négatifs). Douze des 100 sérums positifs concordants et cinq des 106 sérums négatifs concordants ont également été analysés à l'aide des mêmes tests sérologiques de l'EBV. Dans tous les cas, le test spécifique de l'EBV a confirmé la positivité ou négativité des échantillons.

Comparé avec l'hémagglutination, le test MONOSPOT Latex montré une sensibilité de 94% et une spécificité de 93%. Présument que les résultats de sérologie de l'EBV sur les sérums concordants s'appliquent à tous les échantillons testés, on peut en conclure que la sensibilité relative du test MONOSPOT Latex par rapport aux tests spécifiques de l'EBV est de 99% et sa spécificité est de 93%. Un résultat négatif au test MONOSPOT Latex a été trouvé positif en sérologie de l'EBV. Il a été déterminé qu'il s'agissait d'une infection récente et non d'une infection aiguë, dû à l'absence d'anti corps VCA IgM et d'anticorps antigène nucléaire. Pour cette raison, ce résultat négatif ne peut pas être interprété comme un effet prozone.

Dans une étude séparée, le test MONOSPOT Latex est comparé à un test qualitatif sur lame de globules rouges de cheval pour un total de 244 échantillons de plasmas EDTA. Elle montre une concordance parfaite des résultats des tests sur les 51 échantillons positifs et les 173 échantillons négatifs. Les résultats de cette étude indiquent ainsi clairement que le test MONOSPOT Latex est extrêmement sensible et spécifique pour le diagnostic de la mononucléose infectieuse.

Un panel de 10 sérums positifs a été testé pendant trois jours consécutifs à l'aide de la procédure semi-quantitative. L'erreur attendue dans la répétition des titrations était d'une double dilution. Les résultats de l'étude montrent que le test MONOSPOT Latex offre une précision de 100%.

MONOSPOT® Latex

REF 776150

IVD

Rx Only

USO INDICADO
La prueba MONOSPOT Latex es una prueba rápida de un solo paso, de aglutinación de partículas que sirve para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos heterófilos para mononucleosis infecciosa en suero y en plasma. La prueba MONOSPOT Latex ayuda a hacer el diagnóstico de mononucleosis infecciosa.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA
La mononucleosis infecciosa es una enfermedad aguda de etiología viral. Los síntomas más frecuentes de la misma son: fiebre, dolor de garganta, dolor a la largo de los ganglios linfáticos, anorexia, malestar general, dolor de cabeza y dolor muscular. La mayoría de los pacientes presentan esplenomegalia. En cerca de la mitad de los casos aparece un exantema macular, maculopapular o peteal, pero esto es más común en aquellos pacientes que han sido tratados con ampicilina.

Entre las complicaciones de la mononucleosis infecciosa se incluyen la faringitis bacteriana secundaria, ruptura del bazo, anemia hemolítica autoinmune, trombocitopenia autoinmune, miocarditis, hepatitis y sistema nervioso central envuelto con meningoencefalitis o mielitis transversa. Rara vez se ve mononucleosis infecciosa fulminante y fatal o hipogamaglobulinemia adquirida.

El diagnóstico hecho a base de la historia clínica y sintomatología aisladas es difícil. Se han citado numerosos casos en los cuales la mononucleosis infecciosa se ha diagnosticado incorrectamente como otras enfermedades virales y bacterianas no relacionadas.¹ Por esta razón, las pruebas hematológicas y serológicas son muy útiles para el diagnóstico. En 1932² Paul y Bunnell notaron que el suero de los pacientes con mononucleosis infecciosa posee anticuerpos heterófilos contra los glóbulos rojos de camero. También se describieron aglutininas contra los glóbulos rojos de otros mamíferos.^{3,4}

Las proteínas responsables de esta aglutinación son glicoproteínas obtenidas a partir de las membranas celulares de los glóbulos rojos, y a éstas varios autores han llamado antígeno de Paul Bunnell. Los estudios realizados en estas glicoproteínas demuestran que aquellas purificadas a partir de los glóbulos rojos de bovinos son las más sensibles a los anticuerpos heterófilos de la mononucleosis infecciosa. Los anticuerpos heterófilos contra los glóbulos rojos de camero (que son diferentes a los que se encuentran presentes durante la mononucleosis infecciosa), también pueden detectarse en el suero de individuos sanos, a partir de individuos que han recibido inyecciones de suero, y demás.^{3,5}

Tradicionalmente, los anticuerpos heterófilos de la mononucleosis infecciosa se han diferenciado de otros anticuerpos heterófilos mediante una prueba de absorción "diferencial",^{6,7} utilizando glóbulos rojos de bovino y de tejido de riñón de cobayo. Hoy en día el uso del antígeno de Paul-Bunnell purificado y adherido a partículas de látex proporciona un método simple con sensibilidad mejorada para la detección específica de anticuerpos heterófilos que se asocian con la mononucleosis infecciosa.

El agente etiológico de la mononucleosis infecciosa fue descrito en 1968.⁸ Se le llamó Virus de Epstein Barr (VEB) a este microorganismo perteneciente a la familia de los virus del herpes. Posteriormente, se han desarrollado varios métodos serológicos que utilizan antígenos relacionados con el VEB.

Aparentemente, la forma de transmisión es a través del contacto íntimo con la saliva, la contaminación salivar de utensilios para comer y beber y a través de la diseminación por medio de aerosoles.⁹

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS
El Látex del MONOSPOT Latex consiste de una suspensión de partículas de látex de poliestireno, de tamaño uniforme, y recubiertas con antígeno Paul-Bunnell altamente purificado que proviene de membranas celulares de glóbulos rojos bovinos. El grado de pureza de este reactivo es tal que el reactivo de látex MONOSPOT Latex solamente reacciona con anticuerpos heterófilos de mononucleosis infecciosa. Por este motivo, no se requiere de absorciones "diferenciales". Las partículas de látex permiten visualizar la reacción antígeno-anticuerpo. En caso de que haya anticuerpos heterófilos de mononucleosis infecciosa en el suero o en el plasma, la suspensión de látex cambia su apariencia uniforme y una aglutinación clara se hace visible.

- REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS**
El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.
1. **Látex del MONOSPOT Latex** - una suspensión de partículas de látex de poliestireno recubiertas con antígeno de Paul-Bunnell en una solución tampón. Contiene azida de sodio al < 0,1%.
 2. **Control Positivo** - IgG de conejo contra el antígeno de Paul-Bunnell diluido en un tampón. Contiene azida de sodio al < 0,1%.
 3. **Control Negativo** - Suero humano no reactivo diluido. Contiene azida de sodio al < 0,1%.
 4. **Palillos Mezcladores**
 5. **Láminas de pruebas**

- MATERIALES NECESARIOS NO PROPORCIONADOS**
1. Solución Salina normal (0,9% NaCl) solamente para la técnica semicuantitativa
 2. Pipetas automáticas
 3. Cronómetro
 4. Agitador rotatorio
 5. Palillos mezcladores

- PRECAUCIONES**
1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
 2. De cara a asegurar una correcta dosificación del reactivo, el gotero debe colocarse verticalmente y dejar caer una sola gota libremente.
 3. Los reactivos en este equipo contienen azida de sodio en solución como agente preservante. Se ha reportado que este compuesto forma azidas de cobre o plomo en las tuberías de laboratorios, y que éstas pueden resultar siendo explosivas a consecuencia de golpes repetidos en las tuberías. Se aconseja enjuagar los desagües con agua en abundancia después de desechar líquidos que contienen azida de sodio.

ADVERTENCIA: MATERIAL BIOLÓGICO POTENCIALMENTE NOCIVO
Todo el material de origen humano utilizado en la preparación de los reactivos ha sido encontrado negativo a la presencia de anticuerpos de los virus HIV I/II y HCV, así como a la del antígeno de superficie de la hepatitis B, por un método aprobado por la FDA.

Ya que ningún método puede ofrecer la total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos, los reactivos deben ser manejados con precaución.¹⁰ Depositar todos los materiales usados en recipientes adecuados para material biocontaminante.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

 MONOSPOT Detection Latex MONOSPOT Negative Control MONOSPOT Positive Control	Palabras de advertencia PELIGRO Consejos de prudencia - UE (§28, 1272/2008) P301 + P310 - EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico
---	--

- VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO**
1. El Látex del MONOSPOT Latex y los controles permanecerán estables hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta si estos se almacenan entre 2-8 C. No los congele, ya que estos pueden dañarse si no se manejan de manera apropiada, especialmente si se someten a temperaturas extremas.
 2. Se puede hacer una determinación del deterioro de los reactivos chequeando el Látex del MONOSPOT Latex con los controles positivo y negativo. Los reactivos no deben usarse después de la fecha de caducidad indicada en su etiqueta.
 3. Una vez se ha mezclado luego de ser almacenado el Látex MONOSPOT Latex, debe mostrar una consistencia uniforme sin gránulos visibles.
 4. Se considera normal que al ser almacenado el Látex se sedimente ligeramente.
 5. No use el Látex del MONOSPOT Latex o los controles si se han contaminado.
 6. El gotero del reactivo de látex dispensa gotas que oscilan entre 28 µL ± 10%. El gotero debe mantenerse perpendicular a la superficie de la lámina para pruebas permitiendo que solamente caiga una gota. No utilice ningún gotero diferente sin antes chequear el volumen de la gota que dispensa.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA
SUERO:
Utilice suero fresco recolectado después de centrifugar sangre coagulada. En caso de que la prueba no pueda realizarse el mismo día, el suero puede almacenarse entre 2 y 8 C por un período máximo de 48 horas después de haber sido recolectado. Para almacenar durante períodos de tiempo mayores, la muestra debe congelarse a -20 C o menos.

PLASMA:
Recoja la sangre en un tubo que contenga EDTA como anticoagulante. El uso de sangre recolectada con otros anticoagulantes debe evaluarse antes de proceder. Centrifugue la sangre para separar los elementos celulares del plasma. Analice la muestra en un lapso de 24 horas después de recolectarla. No utilice muestras hemolisadas ni contaminadas.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

TÉCNICA CUALITATIVA

- 1. Permita que tanto el reactivo de Látex como los controles alcancen la temperatura ambiente (20-30 C).
- 2. Agite suavemente el vial del Látex con el objeto de dispersar y suspender las partículas de látex dentro de la solución tampón. Evite la agitación vigorosa.
- 3. Coloque 50 µL de muestra (o una gota de control) en una sección de la lámina desechable.
- 4. Agitar el vial del reactivo y añada una gota de reactivo Látex junto a la gota de muestra.
- 5. Mezcle ambas gotas con un palillo mezclador de manera que cubra toda la superficie de la sección en la lámina.
- 6. Rote la lamina manualmente durante tres minutos o en un rotador mecánico entre 80-100 rpm.
- 7. Observe la presencia o ausencia de aglutinación después de completar el tiempo de rotación.

TÉCNICA SEMICUANTITATIVA

Permita que tanto el reactivo de Látex como los controles alcancen la temperatura ambiente (20-30 C). Prepare las diluciones de muestras en dos láminas (ver el diagrama descrito adelante):

- 1. Coloque 50 µL de solución salina normal en las secciones 2 a 6 de la lámina.
- 2. Dispense 50 µL de la muestra con una pipeta automática en las secciones 1 y 2 de la lámina.
- 3. Con la misma pipeta automática, aspire y dispense la muestra y la solución salina normal en la sección 2, varias veces, hasta que éstas se mezclen bien.
- 4. Aspire 50 µL de la mezcla realizada en la sección 2 y transfírala a la sección 3.
- 5. Repita las operaciones mencionadas anteriormente hasta obtener una mezcla concienzuda de los reactivos, transfiriendo 50 µL de la sección 4 a la siguiente sección, y mezclando del mismo modo hasta llegar a la sección 6, donde debe descartarse 50 µL después de mezclar.

SECCION						
SOL. SALINA (µL)	—	50	50	50	50	50
MUESTRA (µL)	50	50	50	50	50	50
MEZCLE y TRANSFIERA		50	50	50	50	50
DILUCION	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32

- 6. Agite suavemente el vial del reactivo Látex y coloque una gota en las secciones 1 a 6 de las láminas que contienen una dilución diferente de muestra.
- 7. Mezcle ambas gotas con un palillo mezclador de modo que la superficie entera de la sección de la lámina quede cubierta.
- 8. Cuidadosamente rote la lámina durante 3 minutos con sus manos, o en un rotador mecánico entre 80 y 100 rpm.
- 9. Observe la presencia o ausencia de aglutinación después de completar el tiempo de rotación.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

TÉCNICA CUALITATIVA

La presencia de aglutinación indica que la muestra contiene una concentración de anticuerpos heterófilos para mononucleosis infecciosa de importancia clínica.

TÉCNICA SEMICUANTITATIVA

El título aproximado corresponderá a la dilución más alta que presenta una aglutinación claramente visible (ver el diagrama anterior).

REACCIONES POSITIVAS

- 3+ Grumos grandes sobre un fondo claro
- 2+ Grumos medianos sobre un fondo ligeramente opaco
- 1+ Grumos pequeños sobre un fondo opaco

REACCIONES NEGATIVAS

No hay aglutinación visible y la suspensión es de color uniforme.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

Látex del MONOSPOT Latex:

- 1. Antes de realizar una serie de determinaciones, se recomienda probar el reactivo de látex con cada uno de los controles positivo y negativo incluidos con el kit.
- 2. Se deben utilizar ambos controles después de realizar los pasos descritos en la TÉCNICA CUALITATIVA.
- 3. La reacción entre el Control Positivo y el Látex debe mostrar una aglutinación clara y diferente de la apariencia uniforme del Control Negativo.

Si los resultados esperados para el control no son observados, repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.

VALORES ESPERADOS

Los estudios realizados con respecto de la presencia de anticuerpos heterófilos para mononucleosis infecciosa en donadores de normal, demostraron una incidencia de enfermedad en un rango de 0,9 a 1,7% en la población.^{11, 12} Puesto que la presencia de anticuerpos es indicativa de infección reciente, estos resultados sugieren que la verdadera incidencia de infección es mayor que aquella de los casos que son diagnosticados.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 1. Tal como ocurre con otros procedimientos diagnósticos, los resultados obtenidos con la prueba MONOSPOT Latex deben interpretarse teniendo en cuenta los síntomas clínicos del paciente.
- 2. Ocasionalmente, en pacientes con síntomas de mononucleosis infecciosa, un nivel de anticuerpos heterófilos detectable, tarda en desarrollarse. En caso de que los síntomas persistan, se recomienda repetir la prueba después de varios días. Algunos pacientes pueden persistir permanentemente negativos, especialmente niños y adolescentes. Se ha publicado que sólo de un 80 a un 90% de los adultos y menos de un 50% de los jóvenes desarrollan anticuerpos heterófilos.
- 3. En algunos individuos pueden persistir niveles detectables de anticuerpos heterófilos durante meses y más raramente durante años.
- 4. A pesar de que el título de anticuerpos tiene poca relación con la gravedad de la infección, el procedimiento semicuantitativo puede usarse para seguir la evolución de la enfermedad.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Se realizaron evaluaciones de sensibilidad y especificidad del reactivo para comparar MONOSPOT Latex con otra prueba comercial de hemaglutinación diferencial.¹³ El estudio utilizó una prueba de hemaglutinación diferencial en lámina para identificar 106 sueros positivos y 114 sueros negativos. Las discrepancias entre los resultados obtenidos con la prueba MONOSPOT Latex y con la prueba comercial de hemaglutinación diferencial fueron resueltas utilizando pruebas serológicas específicas para el Virus de Epstein Barr (VEB).

En estas pruebas para anticuerpos específicos, se determinaron los títulos de: anticuerpos contra el antígeno del cápside viral del Virus de Epstein Barr ACV-VEB (IgG e IgM), anticuerpos contra el antígeno Precoz tanto difuso (AP-D) como restringido (AP-R) del VEB y anticuerpos contra el antígeno nuclear (AN) del VEB. Los resultados de estas pruebas especificaron si las infecciones por el VEB eran recientes o agudas, en cuyo caso el suero era considerado positivo, o si los anticuerpos estaban ausentes o si existían anticuerpos remanentes de una infección pasada, en cuyo caso el resultado se consideraba negativo. Doce de los 100 sueros no discrepantes y positivos, y cinco de los 106 sueros no discrepantes y negativos también fueron analizados utilizando las mismas pruebas serológicas específicas para el VEB. En todas las determinaciones, la prueba específica para el VEB confirmó la positividad o negatividad de las muestras.

Al compararse con la prueba de hemaglutinación, se encontró que la prueba MONOSPOT Latex tenía una sensibilidad de 94% y una especificidad de 93%. Al asumir que los resultados concordantes de la serología para el VEB realizada en muestras de suero no discrepantes se pueden aplicar a todas las muestras analizadas, se puede inferir que la sensibilidad de la prueba MONOSPOT Latex en relación con las pruebas específicas para el VEB equivale a 99%, y que su especificidad relativa a las mismas equivale a 93%. Solamente hubo un resultado negativo en la prueba MONOSPOT Latex, que fue positivo en la serología para el VEB. Debido a la ausencia de anti-ACV IgM y de AN que presentó este suero, se determinó que el suero provenía de una infección reciente y no aguda. Por esto mismo, este resultado negativo no puede interpretarse como un efecto de prozona.

En otro estudio diferente, la prueba MONOSPOT Latex fue comparado con una prueba cualitativa en lámina y de globulos rojos equinos, la cual incluyó 224 muestras de plasma recolectado con EDTA. Los resultados del análisis de 51 muestras positivas y de 173 muestras negativas concordaron completamente. En conclusión, los resultados de este estudio indican claramente que la prueba MONOSPOT Latex es altamente sensible y específica para el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa.

Un panel de 10 muestras de suero positivos fue analizado durante tres días consecutivos utilizando una técnica semicuantitativa. Los resultados del estudio indican que la prueba MONOSPOT Latex tuvo una precisión del 100%. El error asociado con las titulaciones repetidas se esperaba que fuera tan solo de una dilución doble.

VERWENDUNGSZWECK

MONOSPOT Latex ist ein einstufiger, schneller Latexteilchen-Agglutinationstest für den qualitativen und halb-quantitativen Nachweis von heterophilen Antikörpern der infektiösen Mononukleose im Serum oder Plasma. MONOSPOT Latex hilft bei der Diagnose von infektiöser Mononukleose.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Infektiöse Mononukleose ist eine akute, ansteckende, durch Viren verursachte Krankheit. Die häufigsten Symptome sind Fieber, Halsschmerzen, schmerzhafte Lymphknotenerkrankung, Appetitlosigkeit, Unwohlsein, Kopfschmerzen und Muskelschmerzen. Eine Milzvergrößerung findet bei fast allen Patienten statt. Ein fleckiger, makulopapulöser oder punktförmiger Ausschlag tritt bei bis zu 50% der Fälle auf, kommt jedoch am häufigsten bei Patienten vor, die mit Ampicillin behandelt wurden.

Komplikationen bei infektiöser Mononukleose schließen eine sekundäre bakterielle Rachenschleimhautentzündung, Milzbruch, autoimmun-hämolytische Anämie, autoimmunen Blutplättchenmangel, Myokardentzündung, Leberentzündung und Mitleidenschaft des Zentralnervensystems mit Meningoenzephalitis oder Querschnittsmyelitis ein. Eine tödliche, schlagartige infektiöse Mononukleose oder erworbene Hypogammaglobulinämie kommen selten vor.

Eine Diagnose auf der alleinigen Basis einer klinischen Anamnese und Symptomatik ist schwierig. Viele Fälle sind berichtet worden, bei denen die infektiöse Mononukleose mit anderen nichtverwandten Viren – und bakteriellen Krankheiten verwechselt wurde¹. Aus diesem Grunde sind Blut – und serologische Tests bei der Diagnose sehr hilfreich. Im Jahre 1932 stellten Paul und Bunnell² fest, dass Seren von Patienten mit infektiöser Mononukleose heterophile Antikörper für Scharf-Erythrozyten enthalten. Agglutinine gegen rote Blutzellen anderer Säugetiere wurden auch beschrieben.^{3,4}

Die für diese Agglutination verantwortlichen Proteine sind Glykoproteine aus roten Blutzellmembranen, die einige Verfasser mit dem Namen Paul und Bunne II-Antigene bezeichneten. Untersuchungen an diesen Glykoproteinen erwiesen, dass diejenigen, die von Rinderblut-Erythrozyten stammen, am empfindlichsten gegen die heterophilen Antikörper der infektiösen Mononukleose sind. Heterophile Antikörper gegen Scharf-Erythrozyten (die sich von denjenigen unterscheiden, die während der infektiösen Mononukleose auftreten) können auch in Seren gesunder Menschen, sowie von Personen, die Serumspritzen erhalten haben, und bei anderen entdeckt wurden.^{3,5}

Bisher war das herkömmliche Unterscheidungsmittel für heterophile infektiöse Mononukleose -Antikörper von anderen heterophilen Antikörpern ein Differentialabsorptionstest^{6,7} mit Rinderblut-Erythrozyten und Meerschweinchen-Nierengewebe. Zur Zeit bietet die Verwendung des an Latexteilchen gebundene, gereinigte Paul -Bunnell-Antigen eine einfache Methode mit verbesserter Sensitivität für den spezifischen Nachweis von heterophilen Antikörpern der infektiösen Mononukleose.

Im Jahre 1968 wurde der ätiologische Erreger der infektiösen Mononukleose erstmalig beschrieben. Er wurde Epstein-Barr-Virus (EBV) genannt und gehört zur Gruppe der Herpesviren. Anschließend wurden mehrere serologische Methoden für Antigene, die mit EBV zusammenhängen entwickelt.

Als Infektionsmodus der infektiösen Mononukleose gilt intimer Kontakt durch Speichel und Speichelinfiltrierung von Ess – und Trinkgefäßen, sowie Verbreitung von EBV in der Luft.⁹

BIOLOGISCHES PRINZIPIEN

Das MONOSPOT Latex-Reagenzmittel ist eine Suspension aus gleich großen Polystyrol-Latexteilchen, die mit sorgfältig gereinigtem Paul-Bunnell Antigen aus Rinder-Erythrozytenmembranen überzogen sind. Der Reinheitsgrad des Antigens ist so bedeutend, dass MONOSPOT Latex nur mit heterophilen Antikörpern der infektiösen Mononukleose reagiert. Daher ist eine wirkliche "Differentialabsorption" nicht notwendig. Die Latexteilchen lassen eine visuelle Beobachtung der Antigen-Antikörper -Reaktion zu. Wenn heterophile infektiöse Mononukleose-Antikörper entweder im Serum oder im Plasma vorhanden sind, ändert die Latex-Suspension ihr gleichmäßiges Aussehen, und man sieht eine deutliche Agglutination.

REAGENZIENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Außenseite der Packung angegeben.

1. **Latex-Reagenzmittel** – Suspension von Polystyrol-Latexteilchen beschichtet mit Paul-Bunnell-Antigen in einem Puffer. Enthält < 0,1% Natriumazid.
2. **Positive Kontrolle** – Kaninchen-IgG gegen Paul-Bunnell-Antigen verdünnt in Pufferlösung. Enthält < 0,1% Natriumazid.
3. **Negative Kontrolle** – Verdünntes, nicht reaktives, Humanserum. Enthält < 0,1% Natriumazid.
4. **Pipettenrührstäbe**
5. **Test-Objektträger**

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Normale Kochsalzlösung (0,9% NaCl, nur für die halbquantitative Methode)
2. Automatische Pipetten
3. Stoppuhr
4. Rotator
5. Rührstäbchen

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Um die richtige Abgabe der Tropfflasche sicherzustellen, muss diese senkrecht gehalten und ein einziger Tropfen fallengelassen werden.
3. Die in dieser Packung mitgelieferten Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid soll angeblich Blei – oder Kupferazid in der Laborkanalisation bilden können, das bei einer Erschütterung explodieren kann. Nach Entsorgung von Flüssigkeiten, die Natriumazid enthalten, Ausgüsse gründlich mit Wasser spülen.

WARNUNG: POTENTIELLES BIOHAZARD – MATERIAL.

Alle in diesem Kit zur Kontrollherstellung benutzten Humanseren wurden mit einer von der FDA anerkannten Methode auf HBsAg, HIV I/II und HCV Antikörper untersucht und für negativ befunden.

Da keine Methode eine absolute Erregerfreiheit garantieren kann, müssen die Reagenzien mit Vorsicht gehandhabt werden.¹⁰ Alle benutzten Materialien sind separat in Behältern für biologische Abfälle zu entsorgen.

GEFAHREN UND SICHERHEITSHINWEISE

 MONOSPOT Detection Latex MONOSPOT Negative Control MONOSPOT Positive Control	SIGNALWORT Gefahr Sicherheitshinweise - Verordnung (EG) §28, Nr. 1272/2008 P301 + P310 - BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen
---	--

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

1. Das Latex-Reagenzmittel und die Kontrollen halten sich bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 C gelagert werden. Nicht einfrieren. Die Reagenzien können durch falsche Behandlung geschädigt werden, besonders durch hohe oder niedrige Temperaturen.
2. Durch eine Prüfung des Latex-Reagenzmittels mit der mitgelieferten positiven und negativen Kontrolle lässt sich feststellen, ob das Reagenzmittel verborben ist. Die Reagenzien dürfen nach dem Verfallsdatum auf dem Etikett nicht verwendet werden.
3. Nachdem das Latex Reagenzmittel einmal geschüttelt wurde, muss es gleichmäßig und ohne sichtbare Klumpen sein.
4. Bei der Lagerung kann eine geringe Sedimentierung vorkommen, die als normal anzusehen ist.
5. Latex-Reagenzmittel oder Kontrollen nicht verwenden, wenn sie verunreinigt worden sind.
6. Der Reagenzmittel-Tropfer gibt Tropfen von 28 µL ± 10% aus. Der Tropfer muss senkrecht zur Objektträgeroberfläche gehalten werden, und man lässt nur einen einzelnen Tropfen darauf fallen. Keinen anderen Tropfer verwenden, ohne das Tropfenvolumen vorher zu prüfen.

PROBENNAHME UND- VORBEREITUNG**SERUM:**

Frisches, durch Zentrifugieren von geronnenem Blut erhaltenes Serum verwenden. Kann der Test nicht am gleichen Tag ausgeführt werden, darf das Serum nur bis zu 48 Stunden nach Probensammlung bei 2-8 C gelagert werden. Bei längeren Wartezeiten muss die Probe tiefgekühlt werden (-20 C oder darunter).

PLASMA:

Frisches, in einem Reagenzglas, das einen Gerinnungshemmer (EDTA) enthält sammeln. Andere Gerinnungshemmer sind vor Gebrauch auszuwerten. Zentrifugieren, um das Plasma von Zellteilen zu trennen. Die Probe innerhalb von 24 Stunden nach Blutabnahme testen. Keine hämolytischen oder verunreinigten Proben verwenden.

TESTDURCHFÜHRUNG**QUALITATIVES VERFAHREN**

1. Latex-Reagenzmittel und Kontrollen Zimmertemperatur erreichen lassen (20-30 C).
2. Latex-Reagenzmittelflasche sanft schütteln, um die Latexteilchen in der Pufferlösung zu verteilen und zu suspendieren. Kräftiges Schütteln ist zu vermeiden.
3. 50 µL von der Probe (oder einen Tropfen der Kontrolle) auf eine der Unterteilungen auf dem Einweg-Objektträger geben.
4. Reagenzflasche schütteln und einen Tropfen-Latex Reagenzmittel neben den Tropfen von der Probe auftragen.
5. Beide Tropfen mit einem Rührstab mischen, bis die ganze Oberfläche des Objektträgers bedeckt ist.
6. Objektträger 3 Minuten lang sanft mit der Hand rotieren oder mit einem Rotationsrührer, der auf 3 Minuten und 80-100 Umdrehungen pro Minute eingestellt ist.
7. Nachsehen, ob nach der erwähnten Zeit eine Agglutination entstanden ist.

HALB-QUANTITATIVES VERFAHREN

Latex-Reagenzmittel Zimmertemperatur erreichen lassen (20-30 C). Probeverdünnungen auf 2 Objektträgern vorbereiten (siehe Diagramm mit Beschreibung):

- 1. Erst 50 µL normale Salzlösung auf Objektträger-Unterteilungen 2 bis 6 geben.
- 2. Mit einer automatischen Pipette 50 µL der Probe auf Objektträger-Unterteilungen 1 und 2 geben.
- 3. Mit der gleichen Pipette, die Probe und die normale Salzlösung in Unterteilung 2 mehrere Male erst einsaugen und dann herauslaufen lassen, bis sie gut gemischt sind.
- 4. Dann 50 µL der Mischung, die gerade in Unterteilung 2 hergestellt wurde, aufnehmen und zur Unterteilung 3 hinübertragen.
- 5. Oben erwähntes Vorgehen wiederholen, um ein gründliches Mischen der Reagenzien zu erzielen, indem 50 µL von Unterteilung 4 usw., der Reihe nach bis zu Unterteilung 6 übertragen und danach 50µl entsorgt wird.

UNTERTEILUNG	1	2	3	4	5	6
SALZLÖSUNG µL	—	50	50	50	50	50
PROBE µL	50	50				
MISCHEN und ÜBERTRAGEN		↓ 50	↓ 50	↓ 50	↓ 50	↓ 50
VERDÜNNUNG	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32

- 6. Das Latex-Reagenzmittelfläschen sanft schütteln und einen Tropfen auf Unterteilung 1 bis 6 der Objektträger geben, die verschiedenen Probenverdünnungen enthalten.
- 7. Beide Tropfen mit einem Rührstab mischen, so dass die ganze Oberfläche der Objektträgerunterteilung bedeckt ist.
- 8. Objektträger 3 Minuten lang sanft entweder mit der Hand rotieren oder mit einem Rotationsrüttler, der auf 3 Minuten und 80-100 Umdrehungen pro Minute eingestellt ist.
- 9. Nachsehen, ob nach der oben erwähnten Zeit eine Agglutination entstanden ist.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

QUALITATIVES VERFAHREN

Wenn Agglutination vorhanden ist, zeigt dieses eine klinisch wichtige Konzentration heterophiler Antikörper gegen die infektiöse Mononukleose in der Probe an.

HALB-QUANTITATIVES VERFAHREN

Der ungefähre Titer entspricht der höchsten Probenverdünnung, die immer noch eine deutlich sichtbare Agglutination aufweist (siehe Diagramm).

POSITIVE REAKTIONEN

- 3+ Bildung großer Klumpen mit einem klaren Hintergrund.
- 2+ Mäßiges Zusammenklumpen, bei dem die Flüssigkeit im Hintergrund etwas undurchsichtig ist.
- 1+ Kleine Klumpen mit einer undurchsichtigen Flüssigkeit im Hintergrund.

NEGATIVE REAKTIONEN

Kein sichtliches Zusammenklumpen, gleichmäßige Suspension.

QUALITÄTSKONTROLLE

Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.

Prüfung des Latex-Reagenzmittels:

- 1. Es wird empfohlen, vor Durchführung einer Untersuchungsserie das Latex-Reagenzmittel mit jeder der mitgelieferten Kontrollen, sowohl der positiven als auch der negativen, zu prüfen.
- 2. Bei beiden Kontrollen sollten die Schritte durchgeführt werden, die unter QUALITATIVES VERFAHREN aufgelistet sind.
- 3. Die Reaktion zwischen der positiven Kontrolle und dem Latex-Reagenzmittel muss eine deutliche Agglutination zeigen, die sich vom gleichmäßigen Aussehen der negativen Kontrolle unterscheidet.

Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, wiederholen Sie zur Ermittlung der Fehlerquelle als Erstes die Kontrolltest. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitten den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 80 0-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.

ERWARTETE WERTE

Wissenschaftliche Untersuchungen^{11, 12} über das Vorhandensein von heterophilen Antikörpern für infektiöse Mononukleose bei normalspender zeigen, dass die Krankheit bei 0,9 % bis 1,7% der Bevölkerung vorkommt. Da das Vorhandensein von Antikörpern auf eine relativ neue Infektion hinweist, lassen diese Ergebnisse darauf schließen, dass die Krankheit in Wirklichkeit öfter vorkommt, als sie diagnostiziert wird.

EINSCHRÄNKUNGEN

- 1. Wie bei allen diagnostischen Untersuchungen sollen die Ergebnisse des MONOSPOT Latex-Tests unter dem Aspekt der klinischen Symptome beim Patienten gedeutet werden.
- 2. Es besteht die Möglichkeit, dass sich bestimmbar heterophile Antikörpertiter erst verzögert in Patienten mit IM-Symptomatik entwickeln. Falls die Symptome bestehen bleiben, sollte der Versuch nach einigen Tagen wiederholt werden. Einige Patienten, vorzugsweise Kinder und Jugendliche, zeigen durchgehend negative Ergebnisse. Es ist beobachtet worden, dass 80 bis 90% der Erwachsenen und weniger als 50% der Kleinkinder die heterophilen Antikörper entwickeln.
- 3. Feststellbare Titer heterophiler Antikörper können während längerer Zeit (Monate; bei einigen Personen über Jahre) bestehen bleiben.
- 4. Obwohl die Titer von heterophilen Antikörpern wenig Zusammenhang mit der Schwere einer Infektion haben, kann das halbquantitative Verfahren angewandt werden, um die Krankheitsentwicklung zu verfolgen.

LEISTUNGSMERKMALE

Es wurden Auswertungen zum Vergleich von MONOSPOT Latex mit einem käuflichen differentiellen Hämagglutinationstest durchgeführt, um die Sensitivität und Spezifität des Reagenzmittels zu bestimmen.¹³ Es wurde ein differentieller Hämagglutinationstest mit Objektträgern angewandt, um 106 positive und 114 negative Seren für die Studie zu identifizieren. Abweichungen zwischen den Ergebnissen von MONOSPOT Latex und dem Hämagglutinationstest wurden durch Epstein-Barr Virus (EBV) – spezifische serologische Prüfungen beglichen.

Bei diesen Prüfungen wurden die Titer von spezifischen Antikörpern gegen das EBV -Kapsid-Antigen (IgG und IgM), das EBV Frühantigen (das diffuse -D- und beschränkte -R-) und das EBV – nukleare Antigen bestimmt. Die Ergebnisse dieser Prüfungen berücksichtigten, ob die EBV-Infektionen aus letzter Zeit stammten oder akut waren, (in welchem Fall die Seren als positiv galten), ob Antikörper fehlten oder ihre Reste einer alten Infektion zuzuschreiben waren (in welchem Fall das Serum als negativ galt). Zwölf der 100 nicht abweichenden positiven Seren und fünf der 106 nicht abweichenden negativen Seren wurden auch analysiert, indem die gleichen EBV-spezifischen serologischen Tests durchgeführt wurden. In jedem Fall bestätigte der EBV-spezifische Versuch die Positivität oder Negativität der Proben.

Im Vergleich mit dem Hämagglutination wurde bei MONOSPOT Latex eine Sensitivität von 94% und eine Spezifität von 93% gefunden. Wenn man davon ausgeht, dass die übereinstimmenden Resultate der EBV-Serologie bei nicht-abweichenden Seren sich auf alle getesteten Proben beziehen, kann man darauf schließen, dass die Sensitivität bei MONOSPOT Latex relativ zu EBV-spezifischen Tests 99% ist, und seine Spezifität relativ zum gleichen Test 93%. Es gab nur ein Resultat, das beim MONOSPOT Latex negativ ausfiel und positiv bei der EBV-Serologie. Es wurde als Infektion aus letzter Zeit eingestuft und nicht als eine kute Infektion, weil Anti-VCA IgM und nukleares Antigen fehlten. Deshalb kann dieses negative Resultat auch nicht als Prozonenphänomen ausgelegt werden.

Bei einem unabhängigen Versuch unter Verwendung von im Ganzen 224 EDTA Plasmaproben wurde MONOSPOT Latex mit einem qualitativ en Pferd-Erythrozyten Objektträgertest verglichen. Es gab eine völlige Übereinstimmung bei den Testergebnissen, die 51 positive und 173 negative Proben umfassten. Im Ganzen zeigen die Ergebnisse dieses Versuchs deutlich an, dass MONOSPOT Latex bei der Diagnose von infektiöser Mononukleose äußerst sensitiv und spezifisch wirkt.

Eine Gruppe von 10 positiven Serumproben wurde an drei nachfolgenden Tagen unter Verwendung des halb-quantitativen Verfahrens getestet. Die Versuchsergebnisse erwiesen, dass MONOSPOT Latex 100% genau ist. Man hatte als Abweichung beim wiederholten Titrieren nur den einer zweifachen Verdünnung erwartet.

REFERENCES

- 1. Davidsohn I, Stern K and Kashiwagi C. The differential test for infectious mononucleosis. Amer J Clin Pathol 1951;21:1101-1113.
- 2. Paul JR and Bunnell WW. The presence of heterophile antibodies in infectious mononucleosis. Amer J Med Sci 1932;183:90-104.
- 3. Beer P. The heterophile antibodies in infectious mononucleosis and after the injection of serum. J Clin Invest 1936;15:591-599.
- 4. Bailey GH and Raffel S. Hemolytic antibodies for sheep and ox erythrocytes in infectious mononucleosis. J Clin Invest 1935;14:228-244.
- 5. Forssman J. Die Herstellung hochwertiger spezifischer schaffamolsine ohne Verwendung von schaffblut. Biochem Ztschr. 1911;37:78-115.
- 6. Davidsohn I. Serologic diagnosis of infectious mononucleosis J.A.M.A. 1937;108:289-295.
- 7. Stuart CA, Burgess AM, Lawson HA and Wellman HE, Some cytologic and serologic aspects of infectious mononucleosis Arch Intern Med 1934;54:199-214.
- 8. Henle G, Henle W and Diehl V. Relation of burkitt tumor associated herpes-type virus to infectious Mononucleosis Proc Nat Acad Sci USA 1968;59:94-101.
- 9. Hoagland RJ. The transmission of infectious mononucleosis Amer J Med Sci 1955;229:262-272.
- 10. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories CDC/NIH Manual 1984.
- 11. Barret AM. The serological diagnosis of glandular fever (infectious mononucleosis): a new technique J Hyg 1941;41:330.
- 12. Virtanen S. Incidence of infectious mononucleosis antibodies in blood donors Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 1962;56:53-56.
- 13. Tilton RC, Dias F and Ryan RW. Comparative evaluation of three commercial tests for detection of heterophile antibody in patients with infectious mononucleosis J Clin Microbiol 1988;26:275-278.





Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244 USA
Telephone: 513.271.3700
Orders/Customer Service:
800.543.1980
Technical Support Center:
800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124



Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe S. r. L
Via dell' Industria, 7
20020 Villa Cortese, Milano
ITALY
Tel: +39 0331 43 36 36
Fax: +39 0331 43 36 16
Email: info@meridianbioscience.eu
WEB: www.meridianbioscience.com/eu

Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.
2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud
BELGIUM
Tel: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe France
34 rue de Ponthieu - 75008 Paris
FRANCE
Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe b.v.
Postbus 301 - 5460 AH Veghel
NETHERLANDS
Tel: +31 (0) 411 62 11 66
Fax: +31 (0) 411 62 48 41
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	This product fulfils the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
			CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Risikogefahr
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Numero de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limit / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
Rx Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use si el paquete esta dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	TUBE	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.