

Rapid latex particle agglutination test on slide for the qualitative and semiquantitative detection of infectious mononucleosis heterophile antibodies in serum or plasma.

Summary

Infectious mononucleosis (IM) is an acute infectious disease caused by the Epstein-Barr virus (EBV). In 1932, Paul and Bunnell reported that the serum of patients with IM develop high titers of heterophile antibodies to sheep erythrocytes. Also were described agglutinins to red blood cells from other mammals. 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 IM heterophile antibodies. Heterophile antibodies to sheep erythrocytes may also be detected in sera from normal people, from individuals who have received injections of serum, and others. Traditionally the IM heterophile antibodies have been distinguished from other heterophile antibodies by a "differential" absorption test with bovine red blood cells and guinea pig kidney tissue. The use of a highly purified Paul-Bunnell antigen coated to latex particles provides a simple method with improved sensitivity for the specific detection of heterophile antibodies associated with IM.

Principle

The **monolates** 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 **monolates** only reacts with IM heterophile antibodies. For this reason, "differential" absorptions are not necessary. Latex particles allow visual observation of the antigen-antibody reaction. If IM heterophile antibodies are present in the sample, the latex suspension changes its uniform appearance and a clear agglutination becomes evident.

Components

- **Latex reagent:** 1 x 1.4 ml. Suspension of polystyrene latex particles coated with Paul-Bunnell antigen in a buffer. Contains < 0.1% sodium azide.
- **Positive control:** 1 x 1.0 ml. Diluted immune rabbit serum. Contains < 0.1% sodium azide.
- **Negative control:** 1 x 1.0 ml. Non reactive diluted human serum. Contains < 0.1% sodium azide.
- **Disposable slides:** 9 units (x6).

Precautions

monolates is intended for IN VITRO diagnostic use.

The reagents contain sodium azide as a preservative. Azides may react with metal plumbing forming explosive components. Upon disposal, please flush abundantly with water.

All human source material used in the preparation of reagents has been tested by an FDA approved method for the presence of HIV 1/2 and HCV antibodies, as well as for HBsAg and found to be negative.

WARNING: POTENTIALLY BIOHAZARDOUS MATERIAL.

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

Storage

The reagents will remain stable through the expiration date shown on the label if stored between 2-8°C. Do not freeze.

Material required not provided

Normal saline (0.9% NaCl, only for semiquantitative test), automatic pipettes, rotator, stirrers and timer.

Sample collection

Use fresh serum or plasma (EDTA). Samples may be stored at 2-8°C for 8 days. For longer periods, samples should be frozen (-20°C). Other anticoagulants should be evaluated before use.

PROCEDURE

Quality control: Before performing a set of determinations it is advisable to test the latex reagent with each of the controls included in the kit, following the steps outlined in the section QUALITATIVE TEST. The reaction between the positive control and the reagent should show a clear agglutination different from the uniform appearance of the negative control. If these results are not obtained, do not use the kit. To assure proper delivery the reagent dropper must be held vertically and a single drop allowed to fall.

QUALITATIVE TEST

1. Allow the reagents to reach room temperature.
2. Place 50 µl of the sample (or one drop of control) onto one section of the slide.
3. Shake the reagent vial and add one drop of reagent next to the drop of sample.
4. Mix both drops with a stirrer covering the whole surface of the slide section.
5. Rotate the slide for 3 minutes manually or on a rotary shaker set at 80-100 rpm.
6. Observe for agglutination.

Interpretation of the results

Positive result: Presence of agglutination. Sample contains IM heterophile antibodies.

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

Negative result: Absence of agglutination, uniform suspension.

SEMIQUANTITATIVE TEST

1. Place 50 µl of normal saline onto slide sections 1 through 6.
2. Using an automatic pipette, place 50 µl of the sample onto slide section 1.
3. Using the same pipette take in and release the sample and the saline solution on section 1 several times until they are well mixed.
4. Take 50 µl of the mixture made on section 1 and transfer it to section 2.

5. Repeat the aforementioned operations to obtain a thorough mixing of reagents, through section 6, thereafter discarding 50 µl.
6. Test each dilution as described in the section QUALITATIVE TEST.

Interpretation of the results

The IM titer of a sample is the highest dilution showing a positive result.

Limitations of the procedure

- The results should be interpreted in light of the clinical, hematological and serological information of the patient.
- Occasionally detectable levels of heterophile antibodies are late in developing in patients symptomatic for IM. If symptoms persist it is recommended to repeat the assay in several days. Some patients may remain persistently negative, especially children and adolescent. It has been reported that only 80 to 90% of adults and less than 50% of young children develop heterophile antibodies.
- False positive reactions when testing kits for diagnosis of IM heterophile antibodies have been reported in serum samples collected from patients with recent cytomegalovirus, hepatitis A virus, parvovirus and leptospira infection.
- Detectable levels of heterophile antibodies may persist for months, and more rarely for years, in some individuals.

Expected values

Different studies of presence of IM heterophile antibodies in blood donors show that the incidence of the disease ranges from 0.9 to 1.7% of population. As presence of heterophile antibodies indicates a relatively recent infection, these results suggest that the true incidence of the disease is higher than the number of diagnosed cases.

Performance characteristics

Nine commercially available kits for the rapid diagnosis of IM, including **monolates**, were compared with EBV specific assays. A total of 108 samples with clinically suspected IM were included in the study. The sensitivities of the kits, compared with the reference methods, ranged from 63 to 84% and the specificities from 84 to 100%. The sensitivity of **monolates** was 76% and the specificity 98%.

Four commercially available slide agglutination tests for the detection of IM heterophile antibodies were compared to three other tests intended to detect EBV-specific IgM antibodies. 60 serum specimens with symptoms compatible with IM were tested. The sensitivity of the slide agglutination tests ranged from 70 to 80%. The sensitivity of **monolates** was 80%.

Fourteen commercially available kits to screen for IM heterophile antibodies were tested. Sensitivity in abnormal samples, was assessed by using 73 samples with a positive IgM VCA. Observed sensitivities ranged from 83.6 to 100%. Specificity, in normal samples, was assessed using 159 samples. Observed specificities ranged from 88.7 to 100%. The sensitivity of **monolates** was 100% and the specificity 99.4%.

Overall, the results of these studies indicate clearly that **monolates** is highly sensitive and specific for the diagnosis of IM.

Test rápido de aglutinación de partículas de látex en porta, para la determinación cualitativa y semicuantitativa en suero o plasma de anticuerpos heterófilos de mononucleosis infecciosa.

Sumario

La mononucleosis infecciosa (MI) es una enfermedad infecciosa aguda causada por el virus de Epstein-Barr (EBV). En 1932, Paul y Bunnell observaron que los sueros de pacientes que padecían MI contenían anticuerpos heterófilos contra hematies de cordero. Más tarde fueron también descritas aglutininas contra eritrocitos de otros mamíferos. Las proteínas responsables de esta aglutinación son glicoproteínas de membrana de los glóbulos rojos denominadas antígeno de Paul-Bunnell. Diferentes estudios realizados muestran que el antígeno de Paul-Bunnell purificado de eritrocitos bovinos es más sensible a los anticuerpos heterófilos de MI que el procedente de eritrocitos de otros mamíferos. También se pueden detectar anticuerpos heterófilos contra eritrocitos de cordero, diferentes de los de MI, en sueros de personas sanas, en individuos que han recibido inyecciones de suero y otros. Tradicionalmente los anticuerpos heterófilos de MI se han diferenciado de los otros tipos mediante una prueba de absorción "diferencial" consistente en la observación del distinto comportamiento de los mismos frente a los absorbentes de riñón de cobaya o de glóbulos de buey. El uso del antígeno de Paul-Bunnell altamente purificado y absorbido sobre partículas de látex, hace posible la utilización de un método más sensible para la detección de los anticuerpos heterófilos de MI.

Principio

El reactivo **monolatex** es una suspensión de partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme sobre las cuales se ha absorbido antígeno Paul-Bunnell de eritrocitos bovinos, altamente purificado. El grado de pureza del antígeno es tal que el reactivo **monolatex** sólo reacciona con anticuerpos heterófilos de MI. Por esta razón, no es necesaria la absorción "diferencial". Las partículas de látex ponen de manifiesto la reacción antígeno-anticuerpo. Si debido a la presencia de anticuerpos heterófilos de MI tiene lugar dicha reacción, la suspensión de látex pierde su aspecto uniforme haciéndose evidente una clara aglutinación.

Componentes

- **Reactivo látex:** 1 x 1,4 ml.
Suspensión de partículas de látex de poliestireno sensibilizadas con antígeno Paul-Bunnell. Contiene azida sódica < 0,1%.
- **Control positivo:** 1 x 1,0 ml.
Suero de conejo inmune diluido. Contiene azida sódica < 0,1%.
- **Control negativo:** 1 x 1,0 ml.
Suero humano negativo diluido. Contiene azida sódica < 0,1%.
- **Portaobjetos desechables:** 9 unidades (x6).

Precauciones

monolatex es sólo para el diagnóstico IN VITRO. Los reactivos contienen azida sódica como conservante. Las azidas pueden reaccionar con tuberías y desagües metálicos dando lugar a compuestos explosivos. Al tirar los restos de reactivos, dejar correr agua suficiente. 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 1/2 y HCV, así como a la del antígeno de superficie de la hepatitis B, por un método aprobado por la FDA.

ATENCIÓN: MATERIAL DE RIESGO BIOLÓGICO.

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

Conservación

Los reactivos permanecerán inalterados hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se almacenan entre 2 y 8°C. No congelar.

Material necesario no incluido en el kit

Solución salina (0,9% NaCl, sólo para el test semicuantitativo), pipetas automáticas, agitador rotatorio, palillos mezcladores y cronómetro.

Recolección de la muestra

Usar suero fresco o plasma (EDTA). Las muestras pueden ser conservadas durante 8 días entre 2 y 8°C. Si es por un período de tiempo más largo las muestras deben ser congeladas (-20°C). Otros anticoagulantes deben ser comprobados antes de utilizarse.

PROCEDIMIENTO

Control de calidad: Antes de realizar una serie de determinaciones es aconsejable controlar el reactivo látex con cada uno de los controles incluidos en el kit. Ambos controles deberán utilizarse siguiendo los pasos descritos para el TEST CUALITATIVO. La reacción entre el control positivo y el reactivo debe dar una clara aglutinación distinta de la apariencia uniforme del control negativo. Si no se obtienen dichos resultados, no utilice el kit. De cara a asegurar una correcta dosificación del reactivo, el gotero debe colocarse verticalmente y dejar caer una sola gota libremente.

TEST CUALITATIVO

1. Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente.
2. Dosificar 50 µl de muestra (o una gota de control) en una de las secciones del portaobjetos.
3. Agitar el vial del reactivo y añadir una gota del reactivo junto a la gota de muestra.
4. Mezclar ambas gotas con un palillo cubriendo toda la superficie de la sección del portaobjetos.
5. Agitar el portaobjetos con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en un agitador rotatorio (80-100 rpm) durante 3 minutos.
6. Observar la presencia o ausencia de aglutinación.

Interpretación de los resultados

Reacciones positivas: Presencia de aglutinación. La muestra contiene anticuerpos heterófilos de MI.

- 3+ Agregados grandes sobre fondo transparente.
- 2+ Agregados moderados sobre fondo ligeramente opaco.
- 1+ Agregados finos sobre fondo opaco.

Reacciones negativas: Ausencia de aglutinación, suspensión uniforme.

TEST SEMICUANTITATIVO

1. Dosificar 50 µl de solución salina en cada una de las secciones 1 a 6 del portaobjetos.
2. Dosificar con una pipeta automática 50 µl de muestra en la sección 1 del portaobjetos.
3. Con la misma pipeta aspirar y expulsar varias veces la muestra y la solución salina contenidas en la sección 1 hasta lograr una buena mezcla.
4. Tomar 50 µl de la mezcla realizada en la sección 1 y transferirlas a la sección 2.

5. Realizar las mismas operaciones descritas anteriormente para lograr la mezcla correcta de los reactivos hasta la sección 6 y desechar entonces 50 µl.
6. Comprobar cada dilución como está descrito en el apartado TEST CUALITATIVO.

Interpretación de los resultados

El título de la muestra es la dilución más alta que aún presente aglutinación claramente visible.

Limitaciones del procedimiento

- Igual que en otras pruebas de diagnóstico, los resultados deben ser evaluados en función del resto de información clínica, hematológica y serológica del paciente.
- Ocasionalmente, pacientes con síntomas de MI pueden tardar en desarrollar niveles detectables de anticuerpos. Si los síntomas persisten se recomienda repetir la prueba al cabo de unos 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.
- Se han descrito reacciones falsamente positivas al utilizar kits para la detección de anticuerpos heterófilos de MI con muestras de pacientes con infección reciente de citomegalovirus, virus de la hepatitis A, parvovirus y leptospira.
- En algunos individuos pueden persistir niveles detectables de anticuerpos heterófilos durante meses y más raramente durante años.

Valores previstos

Diferentes estudios realizados en donantes de sangre indican que la presencia de anticuerpos heterófilos de MI oscila entre un 0,9 y un 1,7% de la población. Puesto que la presencia de dichos anticuerpos indica una infección relativamente reciente, estos resultados sugieren que la incidencia real de la enfermedad puede ser mayor que el número de casos diagnosticados.

Características funcionales

Nueve kits comerciales para el diagnóstico rápido de la MI, incluyendo el **monolatex**, se compararon con ensayos específicos de EBV. Un total de 108 muestras clínicamente sospechosas de MI se incluyeron en el estudio. Las sensibilidades de los kits, comparadas con los métodos de referencia, oscilaron entre un 63 y un 84% y las especificidades entre un 84 y un 100%. La sensibilidad de **monolatex** fue de un 76% y la especificidad de un 98%.

Cuatro kits comerciales de aglutinación en porta para la detección de anticuerpos heterófilos de MI fueron comparados con otros tres kits para la detección de anticuerpos IgM específicos anti-EBV. Se comprobaron 60 sueros de pacientes con síntomas compatibles con MI. La sensibilidad de los kits de aglutinación en porta osciló entre un 70 y un 80%. La sensibilidad de **monolatex** fue de un 80%.

Se comprobaron 14 kits comerciales para la detección de anticuerpos heterófilos de MI. La sensibilidad con muestras patológicas, se ensayó usando 73 muestras positivas de VCA IgM. Las sensibilidades observadas oscilaron entre un 83,6 y un 100%. La especificidad se ensayó con 159 muestras normales. Las especificidades oscilaron entre un 88,7 y un 100%. La sensibilidad de **monolatex** fue de un 100% y la especificidad de un 99,4%.

Estos datos demuestran claramente que **monolatex** es altamente sensible y específico para el diagnóstico de la MI.

Schnelltest auf Objektträgern durch Agglutination von Latexpartikeln zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung heterophiler Antikörper bei infektiöser Mononukleose in Serum oder Plasma.

Zusammenfassung

Die infektiöse Mononukleose (IM) ist eine schwere Infektionskrankheit, die durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) hervorgerufen wird. Paul und Bunnell berichteten im Jahr 1932, dass das Serum von IM-Patienten hohe Titer heterophiler Antikörper gegen Schafserythrozyten enthalten. Ebenso beschrieben sie Agglutinine gegen rote Blutkörperchen anderer Säugetiere. Die für diese Agglutination verantwortlichen Proteine sind Glykoproteine der Erythrozytenmembranen, die von verschiedenen Autoren als Paul-Bunnell-Antigene bezeichnet werden. Studien zeigen, dass die aus roten Blutkörperchen von Rinderzellen gereinigten Glycoproteine besonders sensibel auf heterophile IM-Antikörper reagieren. Die heterophilen Antikörper gegen Schafserythrozyten können auch in Seren gesunder Personen, die Serumsinjektionen erhalten haben, beobachtet werden.

Früher wurden die heterophilen IM-Antikörper von anderen heterophilen Antikörpern durch einen "Differentialabsorptions-Test" mit Rinder-Erythrozyten und Nierengewebe von Versuchskaninchen unterschieden. Heute verfügt man durch die Kopplung hochreiner Paul-Bunnell-Antigens an Latexpartikel über eine einfache Methode mit verbesserter Sensitivität für die spezifische Bestimmung heterophiler IM-Antikörper.

Prinzip

Das **monolalex**-Reagenz ist eine Suspension aus Polystyren-Latexpartikeln in gleichmässiger Grösse, die mit hochreinem Paul-Bunnell-Antigen aus Rinder-Erythrozytenmembranen beschichtet sind. Der Reinheitsgrad des Antigens ist sehr hoch, so dass **monolalex** nur mit heterophilen IM-Antikörpern reagiert. Aus diesem Grund ist die Differentialabsorption nicht erforderlich. Die Latexpartikel erlauben eine optische Erkennung der Antigen-Antikörper-Reaktion. Sind heterophile IM-Antikörper in der Probe enthalten, wird eine klare Agglutination sichtbar.

Bestandteile

- **Latex Reagenz:** 1 x 1,4 ml.
Mit Paul-Bunnell-Antigen beschichtet Latexpartikel in Puffer. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- **Positiv Kontrolle:** 1 x 1,0 ml.
Verdünntes immunisiertes Kaninchenserum. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- **Negativ Kontrolle:** 1 x 1,0 ml.
Verdünntes, nicht reaktives Humanserum. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- **Einmal-Objektträger:** 9 Einheiten (x6).

Vorsichtsmassnahmen

monolalex ist ausschließlich für die IN VITRO-Diagnostik bestimmt.

Die Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid kann auf Zinn- oder Kupfer-Rohrleitungen und -Abflüssen reagieren und ruft hochexplosive Azidmetalle hervor. Beim Entfernen der Reagenzreste muss mit genügend Wasser nachgespült werden.

Alle in diesem Kit zur Kontrollherstellung benutzten Humansenen wurden mit einer von der FDA anerkannten Methode auf HbsAg, HIV 1/2 und HCV Antikörper untersucht und für negativ befunden.

ACHTUNG: BIOLOGISCH GEFÄHRLICHES MATERIAL.

Da keine Methode eine absolute Erregerfreiheit garantieren kann, müssen die Reagenzien mit Vorsicht gehandhabt werden.

Alle benutzten Materialien sind separat in Behältern für biologische Abfälle zu entsorgen.

Lagerung

Bei einer Lagerungstemperatur von 2-8°C bleiben Reagenz und Kontrollen bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nicht einfrieren.

Notwendiges, nicht mitgeliefertes Material

Normale Kochsalzlösung (0,9% NaCl, nur für die semiquantitative Bestimmung), Automatik-Pipetten, Rotator, Rührstäbchen und Stoppuhr.

Probenmaterial

Frisches Serum oder Plasma (EDTA) benutzen! Falls die Analyse nicht am gleichen Tag durchgeführt werden kann sind die Seren bei 2-8°C zu lagern. Bei Lagerung über 8 Tagen sollten die Proben bei -20°C eingefroren werden. Falls andere Antikoagulanzen benutzt werden sollen, muss deren Anwendbarkeit vorher bewertet werden.

DURCHFÜHRUNG

Qualitätskontrolle: Vor Durchführung der verschiedenen Bestimmungsstufen muss eine Überprüfung des Latexreagenz mit jeder der im Kit enthaltenen Kontrollen entsprechend der im Abschnitt QUALITATIVE BESTIMMUNG aufgeführten Schritte vorgenommen werden. Die Reaktion zwischen Positiv-Kontrolle und Reagenz muss eine klare Agglutination zeigen, die sich von dem homogenen Aussehen der Negativ-Kontrolle unterscheidet. Andernfalls dürfen die Reagenzien nicht verwendet werden.

Um die richtige Abgabe der Tropfflasche sicherzustellen, muss diese senkrecht gehalten und ein einziger Tropfen fallengelassen werden.

QUALITATIVE BESTIMMUNG

1. Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.
2. 50 µl der Probe (oder einen Tropfen der Kontrolle) auf eines der Objektträgerfeldchen bringen.
3. Reagenzflasche schütteln und 1 Tropfen Latexreagenz neben den Tropfen der Probe geben.
4. Beide Tropfen mit einem Holz- oder Plastikstäbchen gut mischen und auf der ganzen Testfeldoberfläche verteilen.
5. Objektträger leicht per Hand oder auf dem Rotator (80-100 UPM) während 3 Minuten schwenken.
6. Danach Agglutination ablesen.

Auswertung der Ergebnisse

Positive Ergebnisse: Die Agglutination zeigt ein positives Ergebnis und damit die Anwesenheit von heterophilen IM-Antikörpern in der Probe an.

- 3+ Große Aggregate auf durchsichtigem Hintergrund.
- 2+ Mittlere Aggregate auf leichttrüben Hintergrund.
- 1+ Feine Aggregate auf trüben Hintergrund.

Negative Ergebnisse: Abwesenheit einer Agglutination, homogene Suspension.

SEMIQUANTITATIVE BESTIMMUNG

1. 50 µl normale Kochsalzlösung auf je eines der Testfelder 1-6 des Objektträgers geben.
2. Mit automatischer Pipette 50 µl der Probe auf Testfeld 1 des Objektträgers geben.
3. Mit der gleichen Pipette Probe und Salzlösung des Testfeldes 1 mehrmals aufziehen und abgeben, bis eine gute Mischung entsteht.
4. 50 µl der Mischung von Testfeld 1 nehmen und auf Testfeld 2 überführen.

5. Die beschriebenen Schritte bis Testfeld 6 wiederholen, damit die richtige Mischung entsteht. Nach Testfeld 6 müssen 50 µl der Mischung verworfen werden.
6. Jede Verdünnung so bewerten, wie im Kapitel QUALITATIVE BESTIMMUNG beschrieben.

Auswertung der Ergebnisse

Der IM-Titer einer Probe entspricht der höchsten Verdünnungsstufe mit positivem Ergebnis.

Begrenzung der Methode

- Wie auch bei anderen Untersuchungen zur Diagnose müssen die Ergebnisse unter Berücksichtigung der klinischen, hämatologischen und serologischen Daten des Patienten ausgewertet werden.
- Es besteht die Möglichkeit, dass sich bestimmbare 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.
- Falsch positive Ergebnisse sind in Serumproben von Patienten mit zurückliegenden Infektionen durch Cytomegalieviren, Hepatitis-A-Viren, Parvoviren und Leptospiren beobachtet worden.
- Feststellbare Titer heterophiler Antikörper können während längerer Zeit (Monate; bei einigen Personen über Jahre) bestehen bleiben.

Erwartete Werte

Verschiedene Studien zur Anwesenheit heterophiler IM-Antikörper in Blutspendern zeigen eine Krankheitsinzidenz von 0,9 bis 1,7% der Bevölkerung. Die Anwesenheit von heterophilen Antikörpern zeigt eine relativ frische Infektion an, was bedeutet, dass die wirkliche Inzidenz der Krankheit viel höher als die Anzahl der diagnostizierten Fälle ist.

Charakteristika des Tests

Neun kommerziell erhältliche IM-Schnelldiagnose-Kits, einschließlich **monolalex**, wurden mit EBV-spezifischen Tests verglichen. Insgesamt bezog man 108 Proben mit klinischem IM-Verdacht in die Studie ein. Die Sensitivitäten der Kits, im Vergleich zur Referenzmethode, schwankten zwischen 63 und 84% und die Spezifitäten zwischen 84 und 100%. Der **monolalex**-Test zeigte eine Sensitivität von 76% und eine Spezifität von 98%.

Vier kommerziell erhältliche Hämagglutinations-Objektträgertests zur Bestimmung heterophiler IM-Antikörper wurden mit drei anderen Tests zur Bestimmung von EBV-spezifischen IgM-Antikörpern verglichen. Man untersuchte 60 Serumproben von Patienten mit IM-kompatiblen Symptomen. Die Sensitivität der Agglutinations-Objektträgertests bewegte sich zwischen 70 und 80%. Der **monolalex**-Test zeigte eine Sensitivität von 80%.

Es wurden vierzehn kommerziell erhältliche Kits zur Bestimmung heterophiler IM-Antikörper untersucht. Die Sensitivität anomaler Proben wurde durch die Anwendung von 73 Proben mit einem positiven VCA-IgM untersucht. Die beobachtete Sensitivität lag zwischen 83,6% und 100%. Zur Untersuchung der Spezifität wurden 159 normale Proben untersucht. Die beobachteten Spezifitäten schwankten zwischen 88,7% und 100%. Für **monolalex** wurde eine 100%-ige Sensitivität und eine 99,4%-ige Spezifität ermittelt.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Studien eindeutig, dass **monolalex** hochsensitiv und spezifisch für die Diagnose der infektiösen Mononukleose ist.

Test rapide d'agglutination de particules de latex sur lame pour la détermination qualitative et semiquantitative des anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse dans le sérum ou le plasma.

Résumé

La mononucléose infectieuse (MI) est une maladie infectieuse aiguë causée par le virus d'Epstein-Barr (EBV). En 1932, Paul et Bunnell rapportent que le sérum de patients porteurs de la MI développe un grand nombre d'anticorps hétérophiles anti érythrocytes de mouton. Des agglutinines anti globules rouges d'autres mammifères ont aussi été décrites. Les protéines responsables de cette agglutination sont des glycoprotéines de membrane de globules rouges appelées antigènes Paul-Bunnell par plusieurs auteurs. Des études sur ces glycoprotéines montrent que les plus sensibles aux anticorps hétérophiles de la MI sont celles qui sont purifiées à partir de globules rouges bovins. Les anticorps hétérophiles anti érythrocytes de mouton peuvent aussi être détectés dans le sérum de personnes normales, d'individus transfusés ou autres.

Traditionnellement, les anticorps hétérophiles de la MI se distinguent d'autres anticorps hétérophiles par un test d'absorption "différentielle" avec des globules rouges bovins et du tissu rénal de cobaye. Aujourd'hui, l'utilisation d'un antigène Paul-Bunnell hautement purifié recouvrant des particules de latex offre une méthode simple de meilleure sensibilité pour la détection spécifique d'anticorps hétérophiles associés à la MI.

Principe

Le réactif **monolatex** est une suspension de particules de latex de polystyrène de dimension uniforme sensibilisées avec l'antigène Paul-Bunnell hautement purifié à partir de membranes d'hématies de boeuf. Le degré de pureté de l'antigène est tel que le réactif **monolatex** réagit uniquement en présence d'anticorps hétérophiles de MI. C'est la raison pour laquelle les absorptions "différentielles" ne sont pas nécessaires. Les particules de latex permettent une observation visuelle de la réaction antigène-anticorps. Si l'échantillon contient des anticorps hétérophiles de la MI, la suspension latex modifie son aspect uniforme et une agglutination claire devient évidente.

Composants

- **Réactif latex:** 1 x 1,4 ml.
Suspension de particules de latex sensibilisées avec l'antigène de Paul-Bunnell. Contient < 0,1% d'azide de sodium.
- **Contrôle positif:** 1 x 1,0 ml.
Sérum de lapin immunisé, dilué. Contient < 0,1% d'azide de sodium.
- **Contrôle négatif:** 1 x 1,0 ml.
Sérum humain dilué. Contient < 0,1% d'azide de sodium.
- **Lames jetables:** 9 unités (x6).

Précautions

monolatex est destiné à un usage diagnostique IN VITRO.

Les réactifs contiennent de l'azide sodique comme conservateur. Les azides peuvent réagir avec des canalisations métalliques et former des composés explosifs. Après élimination, rincer abondamment avec de l'eau. 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 1/2 et anti-HCV ainsi que pour celle de l'antigène de surface de l'hépatite B. Cette recherche s'est avérée négative.

ATTENTION: MATÉRIEL À RISQUE BIOLOGIQUE.

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

Conservation

Les réactifs restent stables jusqu'à la date limite indiquée sur l'étiquette, lorsque ceux-ci sont conservés à une température d'entre 2 et 8°C. Ne pas congeler.

Matériel nécessaire non fourni

Solution saline (0,9% NaCl, uniquement pour le test semiquantitatif), pipettes automatiques, agitateur rotatif, bâtonnets et chronomètre.

Prélèvement

Utiliser du sérum ou du plasma frais (EDTA). Les échantillons peuvent être conservés à 2-8°C pendant 8 jours. Pour des périodes plus longues, les échantillons doivent être congelés (-20°C). Avant l'usage, il faudra évaluer d'autres anticoagulants.

PROCÉDURE

Contrôle de qualité: Avant de réaliser une série de déterminations, tester le réactif latex avec chaque contrôle, inclus dans le coffret. Les deux contrôles seront utilisés selon les étapes décrites dans le TEST QUALITATIF. La réaction entre le contrôle positif et le réactif doit donner une agglutination nette différente de l'apparence uniforme du contrôle négatif. Si ces résultats ne sont pas obtenus, ne pas utiliser le réactif. Pour assurer une bonne distribution, tenir le compte-gouttes de réactif en position verticale et verser une seule goutte.

TEST QUALITATIF

1. Attendre que les réactifs atteignent la température ambiante.
2. Déposer 50 µl de l'échantillon (ou une goutte de contrôle) sur une des sections de la lame.
3. Agiter le flacon du réactif et ajouter une goutte de réactif à côté de la goutte d'échantillon.
4. Mélanger les deux gouttes avec un bâtonnet en recouvrant toute la surface de la section de la lame.
5. Agiter la lame avec un léger mouvement de rotation, manuellement ou à l'aide d'un agitateur rotatif (80-100 tpm) pendant 3 minutes.
6. Vérifier la présence ou l'absence d'agglutination.

Interprétation des résultats

Réactions positives: Présence d'agglutination. L'échantillon contient des anticorps hétérophiles de MI.

- 3+ Grands agrégats sur fond transparent.
- 2+ Agrégats modérés sur fond légèrement opaque.
- 1+ Agrégats fins sur fond opaque.

Réactions négatives: Absence d'agrégats, suspension uniforme.

TEST SEMIQUANTITATIF

1. Déposer 50 µl de solution saline sur les sections 1 à 6 de la lame.
2. Déposer à l'aide d'une pipette automatique 50 µl de l'échantillon sérum sur la section 1 de la lame.
3. Avec la même pipette mélanger l'échantillon et la solution saline de la section 1 plusieurs fois.

4. Prélever 50 µl de la dilution obtenue dans la section 1 et les transférer dans la section 2.
5. Répéter l'étape antérieure et suivre de suite jusqu'à la section 6, prélever 50 µl et les jeter.
6. Analyser chaque dilution selon est décrite dans la section TEST QUALITATIF.

Interprétation des résultats

Le titre de l'échantillon est la dilution la plus élevée présentant une réaction positive.

Limites du test

- Les résultats doivent être interprétés en accord avec le bilan clinique, hématologique et sérologique du patient.
- Occasionnellement, chez des patients symptomatiques de la MI, les concentrations détectables d'anticorps hétérophiles apparaissent tardivement. Si les symptômes persistent, il est recommandé de réaliser un nouveau test quelques jours après. 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.
- Des réactions faussement positives ont été obtenues avec des échantillons sériques de patients ayant été infectés par le cytomégalovirus, le virus de l'hépatite A, le parvovirus et la leptospirose.
- Chez certains individus des concentrations détectables d'anticorps hétérophiles peuvent persister pendant des mois, et plus rarement pendant des années.

Valeurs attendues

Différentes études sur la présence d'anticorps hétérophiles de la MI chez les donneurs de sang ont montré que l'incidence de la maladie varie entre 0,9 et 1,7% de la population. Puisque la présence d'anticorps hétérophiles indique une infection relativement récente, ces résultats suggèrent que l'incidence réelle de la maladie est plus élevée que le nombre de cas diagnostiqués.

Performance

Neuf kits du marché pour le diagnostic rapide de la MI, dont le **monolatex**, furent comparés à des tests spécifiques EBV. 108 échantillons cliniquement soupçonnables de MI furent inclus dans cette étude. La sensibilité des kits, en comparaison avec les méthodes de référence, variaient de 63 à 84% et les spécificités de 84 à 100%. La sensibilité du **monolatex** fut de 76% et sa spécificité de 98%.

Quatre tests d'agglutination sur lame pour la recherche d'anticorps hétérophiles de la MI ont été comparés avec trois tests différents pour la détection d'anticorps IgM spécifiques d'EBV. 60 échantillons de patients ayant des symptômes compatibles avec la MI ont été testés. La sensibilité des tests sur lame varia entre 70 et 80%. La sensibilité du **monolatex** fut de 80%.

Quatorze kits pour la recherche de la MI furent comparés. La sensibilité a été évaluée sur 73 échantillons positifs en VCA IgM. Les sensibilités constatées furent de 83,6 à 100%. La spécificité des trousseaux fut évaluée sur 159 échantillons négatifs. Les spécificités observées furent de 88,7 à 100%. La sensibilité du **monolatex** fut de 100% et sa spécificité de 99,4%.

Les résultats de ces études indiquent clairement que le **monolatex** est hautement sensible et spécifique pour la détection de la MI.

Test rapido di agglutinazione al lattice su vetrino per la determinazione qualitativa e semiquantitativa degli anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva su siero o plasma.

Introduzione

La mononucleosi infettiva (MI) è una infezione acuta causata dal virus Epstein-Barr (EBV). Nel 1932 Paul e Bunnell videro che i sieri di pazienti con MI hanno anticorpi eterofili contro le emazie di pecore. Più tardi furono altresì descritte agglutinazioni contro eritrociti di altri mammiferi. Le proteine responsabili di questa agglutinazione sono glicoproteine di membrana dei globuli rossi denominate antigene di Paul-Bunnell. Diversi studi indicano che l'antigene di Paul-Bunnell, purificato da eritrociti bovini, è più sensibile agli anticorpi eterofili della MI. Anticorpi eterofili di eritrociti di pecora (che sono diversi da quelli presenti nel corso della mononucleosi) possono anche essere determinati in sieri di persone normali, da individui che hanno ricevuto iniezioni da siero o altro.

Tradizionalmente gli anticorpi eterofili della MI sono distinti da altri anticorpi eterofili con un test "differenziale" di assorbimento con emazie di bovino e tessuto renale di porcellino d'India. Ora, l'uso di antigene Paul-Bunnell altamente purificato attaccato ad una particella di lattice fornisce un metodo semplice con miglior sensibilità per la determinazione specifica degli anticorpi eterofili associati alla MI.

Principio

Il reagente **monolates** è una sospensione di particelle di lattice di polistirene di dimensione uniforme rivestite di antigene Paul-Bunnell altamente purificato, ottenuto da membrane di emazie bovine. Il grado di purezza dell'antigene è tale che il **monolates** reagisce solo con gli anticorpi eterofili della MI. Per questa ragione, assorbimenti "differenziali" non sono necessari.

Le particelle di lattice permettono un'osservazione visiva della reazione antigeno-anticorpo. Se gli anticorpi eterofili della MI sono presenti nel campione, cambia aspetto la sospensione di lattice da uniforme ad un'agglutinazione evidente.

Componenti

- **Reattivo lattice:** 1 x 1,4 ml.
Sospensione di particelle al lattice di polistirene, sensibilizzata con antigene Paul-Bunnell. Contiene < 0,1% di sodio azide.
- **Controllo positivo:** 1 x 1,0 ml.
Siero di coniglio immune diluito. Contiene < 0,1% di sodio azide.
- **Controllo negativo:** 1 x 1,0 ml.
Siero umano non reattivo diluito. Contiene < 0,1% di sodio azide.
- **Vetrini monouso:** 9 unità (x6).

Precauzioni

monolates è per uso diagnostico IN VITRO. I reattivi di questo kit contengono sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con il piombo o in rame formando composti altamente esplosivi, perciò lavare abbondantemente con acqua le tubature per evitarne l'accumulo. 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 1/2, anti-HCV e HBsAg.

ATTENZIONE: MATERIALE POTENZIALMENTE BIOPERICOLOSO.

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. Depositare tutti i materiali utilizzati in recipienti idonei per materiale biocontaminante.

Conservazione

Tutti i componenti del kit sono stabili fino alla data di scadenza se conservati a 2-8°C. Non congelare.

Materiale non incluso nel kit

Soluzione salina (0,9% NaCl, solo per la tecnica semiquantitativa), micropipette, agitatore rotante, bastoncini e cronometro.

Raccolta dei campioni

Usare siero fresco o plasma (EDTA). Se non si può eseguire in giornata il test il siero va conservato a 2-8°C per non più di 8 giorni; per tempi più lunghi deve essere congelato (-20°C). Altri anticoagulanti dovrebbero essere valutati prima dell'uso.

PROCEDURA

Controllo di qualità: Prima di fare un gruppo di determinazioni testare il reagente con i controlli inclusi nel kit. Ogni controllo dovrebbe essere usato utilizzando la TEST QUALITATIVO. La reazione del controllo positivo con il reagente dovrebbe mostrare una chiara agglutinazione, diversa dall'aspetto uniforme del controllo negativo. Se non si ottiene questo risultato, scartare il kit.

Il dispensatore deve essere messo in verticale rispetto al piano di lavoro. Deve essere dispensata una goccia alla volta.

TEST QUALITATIVO

1. Portare tutti i reattivi a temperatura ambiente.
2. Mettere 50 µl di campione (o una goccia di controllo) in una sezione del vetrino.
3. Agitare la fiala di reagente e aggiungere una goccia di reagente vicino a quella del campione.
4. Miscelare entrambe le gocce con un agitatore utilizzando l'intera superficie della sezione del vetrino.
5. Rotolare manualmente il vetrino per 3 minuti oppure su un agitatore automatico a 80-100 rpm.
6. Controllare la presenza o l'assenza di agglutinazione.

Interpretazione dei risultati

Reazioni positive: La presenza di agglutinazione indica una significativa presenza di anticorpi eterofili di MI nel campione.

- 3+ Grossa agglutinazione su fondo chiaro.
- 2+ Moderata agglutinazione su leggero fondo con fluido opaco.
- 1+ Piccola agglutinazione su fondo con fluido opaco.

Reazioni negative: Non presenta agglutinazione, sospensione uniforme.

TEST SEMIQUANTITATIVO

1. Mettere 50 µl di soluzione salina nelle sezioni del vetrino da 1 a 6.
2. Con una pipetta automatica mettere 50 µl di campione nelle sezioni 1.
3. Con la stessa pipetta miscelare il campione con la salina nella sezione 1 del vetrino.

4. Prendere 50 µl di questa miscela dalla sezione 1 e trasferirlo nella sezione 2.
5. Ripetere questa operazione trasferendo 50 µl dalla sezione 2 alla 3 fino alla sezione 6. Scartare 50 µl dalla sezione 6.
6. Misurare ogni diluizione come descritto nella sezione TEST QUALITATIVO.

Interpretazione dei risultati

Il titolo approssimativo corrisponde alla più alta diluizione del campione che presenta una chiara e visibile agglutinazione.

Limitazioni della procedura

- Come con tutte le determinazioni, i risultati del test devono essere interpretati considerando i sintomi clinici dei pazienti.
- 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.
- Le reazioni false positive sono state riscontrate in campioni di siero raccolti da pazienti con infezioni recenti da citomegalovirus, virus epatite A, parvovirus, leptospira.
- Livelli misurabili di anticorpi eterofili possono resistere, in alcuni individui, per mesi, e raramente per anni.

Valori attesi

Differenti studi sulla presenza di anticorpi eterofili della MI in donatori di sangue mostrano l'incidenza della malattia nello 0,9-1,7% della popolazione. Come la presenza di anticorpi indica una infezione relativamente recente, questi risultati ci suggeriscono che i casi diagnosticati sono maggiori della vera incidenza della malattia.

Caratteristiche di funzionalità

Nove kit per la diagnosi rapida di IM disponibili sul mercato, incluso il **monolates**, sono stati confrontati con test specifici di EBV. Sono stati inclusi nello studio un totale di 108 campioni con sospetto clinico di IM. La sensibilità dei kit, paragonata ai metodi di riferimento, ha avuto un range tra 63 e 84% e la specificità da 84 a 100%. La sensibilità del **monolates** era del 76% e la specificità del 98%.

Quattro test di agglutinazione su vetrini disponibili sul mercato per la determinazione di anticorpi IM eterofili sono stati confrontati con altri tre test studiati per l'analisi degli anticorpi IgM EBV specifici. Sono stati analizzati 60 campioni di siero con sintomi compatibili con IM. La sensibilità del test di agglutinazione su vetrino ha avuto un'oscillazione da 70 a 80%. La sensibilità del **monolates** era dell'80%.

Sono stati analizzati quattordici kit disponibili sul mercato per l'analisi degli anticorpi eterofili per IM. La sensibilità nei campioni anormali, stimata utilizzando 73 campioni con VCA IgM positivo. La percentuale della sensibilità era compresa tra 83,6 e 100%. La specificità in campioni normali è stata ottenuta usando 159 campioni. L'oscillazione delle specificità osservate è stata dall'88,7 al 100%. La sensibilità del **monolates** era del 100% e la specificità del 99,4%.

Complessivamente, i risultati di questi studi indicano chiaramente che il **monolates** è altamente sensibile e specifico per la diagnosi di IM.

Teste rápido para determinação qualitativa e semi-quantitativa no soro e plasma de anticorpos heterófilos de mononucleose infecciosa, por aglutinação de partículas de látex em lâmina.

Sumário

A Mononucleose Infecciosa (MI) é uma enfermidade aguda causada pelo vírus de Epstein-Barr (EBV). Em 1932, Paul e Bunnell, notaram que os soros de pacientes de MI continham anticorpos heterófilos contra hemácias de carneiro. Mais tarde foram também descritas aglutininas contra eritrócitos de outros mamíferos. As proteínas responsáveis por esta aglutinação são glicoproteínas de membrana de glóbulos vermelhos, denominadas antígeno de Paul Bunnell. Diferentes estudos realizados demonstram que o antígeno de Paul Bunnell purificado de eritrócitos bovinos é mais sensível aos anticorpos heterófilos de MI que o antígeno procedente de eritrócitos de outros mamíferos. Também se pode detectar anticorpos heterófilos contra eritrócitos de carneiro diferentes dos de MI, em soros de pessoas sãs, de indivíduos que receberam injeções de soros, e outros. Tradicionalmente, os anticorpos heterófilos de MI têm sido distinguidos de outros tipos, mediante uma prova de absorção "diferencial", com células de rins de cobaia ou de glóbulos de boi. O uso do antígeno de Paul Bunnell, altamente purificado e absorvido sobre partículas de látex, torna possível a utilização de um método mais sensível para a detecção de anticorpos heterófilos de MI.

Princípio

O reativo **monolatest** é uma suspensão de partículas de látex de poliestireno de tamanho uniforme recobertas com antígeno de Paul-Bunnell altamente purificado de eritrócitos bovinos. O grau de pureza dos antígenos é tal que o **monolatest** só reage com anticorpos heterófilos de MI. Por esta razão, não é necessária a absorção "diferencial". As partículas de látex permitem visualizar a reação antígeno-anticorpo. Se anticorpos heterófilos de MI estão presentes na amostra, a suspensão de látex perde seu aspecto homogêneo, evidenciando-se uma clara aglutinação.

Componentes

- **Reativo látex:** 1 x 1,4 ml. Suspensão de partículas de látex de poliestireno sensibilizadas com antígeno de Paul-Bunnell. Contém azida sódica < 0,1%.
- **Controle positivo:** 1 x 1,0 ml. Soro de coelho imune, diluído. Contém azida sódica < 0,1%.
- **Controle negativo:** 1 x 1,0 ml. Soro humano negativo, diluído. Contém azida sódica < 0,1%.
- **Lâminas descartáveis:** 9 unidades (x6).

Precauções

monolatest é para o diagnóstico IN VITRO.

Os reativos deste kit contêm azida sódica como conservante. A azida sódica pode reagir com encanamentos de esgoto que contenham chumbo ou cobre, originando azidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar os restos de reativos, fazê-lo em abundante volume de água para evitar o acúmulo de azidas. Todos os soros humanos utilizados na preparação dos reativos deste kit foram testados e apresentaram resultado negativo para a presença de anticorpos contra os vírus HIV 1/2 e hepatite C como também para o antígeno de superfície da hepatite B, utilizando um método aprovado pelo FDA.

ATENÇÃO: MATERIAL DE RISCO BIOLÓGICO.

Dado que nenhum método pode oferecer a total segurança da ausência de agentes infecciosos, os reativos deste kit devem ser manipulados com cuidado. Descartar todos os materiais usados em recipientes adequados para material bio-contaminante.

Conservação

Os reativos permanecem estáveis até a data de validade indicada na etiqueta, se forem conservados entre 2 e 8°C. Não congelar.

Material necessário não incluído

Solução salina (NaCl 0,9%, somente para o teste semi-quantitativo), pipetas automáticas, agitador rotatório, palitos de madeira e cronômetro.

Coleta da amostra

Usar soro fresco ou plasma (EDTA). As amostras podem ser conservadas por 8 dias entre 2 e 8°C. Para guardar por um período mais longo a amostra deve ser congelada (-20°C). Outros anticoagulantes devem ser avaliados antes de serem utilizados.

PROCEDIMENTO

Controle de qualidade: Antes de efetuar uma série de determinações é aconselhável testar o reativo látex com cada um dos controles incluídos no kit. Os controles devem ser testados seguindo-se o TESTE QUALITATIVO. A reação entre o controle positivo e o reativo deve dar uma clara aglutinação, diferente da aparência uniforme do controle negativo. Se estes resultados não são obtidos, não utilize o kit. O conta-gotas deve ser colocado verticalmente e deixar cair apenas uma gota.

TESTE QUALITATIVO

1. Deixar que o reativo e os controles alcancem a temperatura ambiente.
2. Colocar 50 µl de amostra (ou uma gota de controle) em uma das seções da lâmina.
3. Agitar o frasco do reativo e colocar uma gota do reativo junto à gota de amostra.
4. Misturar ambas gotas com um palito, cobrindo-se toda a superfície da seção da lâmina.
5. Agitar a lâmina com um suave movimento de rotação, seja manualmente ou com um agitador rotatório (80-100 rpm), durante 3 minutos.
6. Observar a presença ou ausência de aglutinação.

Interpretação dos resultados

Reações positivas: Presença de aglutinação. A amostra contém anticorpos heterófilos de MI.

- 3+ Agregados grandes sobre fundo transparente.
- 2+ Agregados médios sobre fundo ligeiramente opaco.
- 1+ Agregados finos sobre fundo opaco.

Reações negativas: Ausência de agregados, suspensão uniforme.

TESTE SEMI-QUANTITATIVO

1. Colocar 50 µl de solução salina em cada uma das seções 1 a 6 da lâmina.
2. Com uma pipeta automática, colocar 50 µl de amostra na seção 1 da lâmina.
3. Com a mesma pipeta aspirar e expulsar várias vezes a amostra e a solução salina contidos na seção 1 até conseguir uma boa mistura.

4. Tomar 50 µl da mistura obtida na seção 1 e transferir para a seção 2.
5. Realizar as mesmas operações descritas anteriormente para conseguir a mistura correta dos reativos e transferir 50 µl da seção 2 para a 3 e assim sucessivamente até a 6, devendo-se desprezar 50 µl.
6. Testar cada diluição tal como se descreve na seção TESTE QUALITATIVO.

Interpretação dos resultados

O título corresponderá à diluição mais alta do soro que ainda apresente aglutinação.

Limitações do procedimento

- Como em outras provas diagnósticas, os resultados obtidos devem ser avaliados em função das informações clínicas, hematológicas e sorológicas do paciente.
- Ocasionalmente, pacientes com sintomas de MI, podem tardar em desenvolver níveis detectáveis de anticorpos. Se os sintomas persistem, recomenda-se repetir a prova após alguns dias. Alguns pacientes podem permanecer persistentemente negativos, especialmente crianças e adolescentes. Segundo dados publicados, apenas 80 a 90% dos adultos e menos de 50% das crianças infectadas, desenvolvem anticorpos heterófilos.
- Reações falsamente positivas para anticorpos heterófilos de MI já foram descritas com amostras de pacientes com infecção recente por citomegalovírus, hepatite A, parvovirus e leptospirose.
- Em alguns indivíduos podem permanecer níveis detectáveis de anticorpos heterófilos durante meses e mais raramente, durante anos.

Valores previstos

Diferentes estudos realizados em doadores de sangue, indicam que a presença de anticorpos heterófilos de MI varia de 0,9 a 1,7% da população. Dado que a presença dos citados anticorpos indica uma infecção relativamente recente, estes resultados sugerem que a incidência real da enfermidade pode ser maior que o número de casos diagnosticados.

Características funcionais

Nove kits disponíveis comercialmente para o diagnóstico rápido de MI, incluindo o **monolatest**, foram comparados com ensaios específicos para EBV. Um total de 108 amostras de pacientes com suspeita clínica de MI foram incluídos no estudo. As sensibilidades dos kits, comparando com os métodos de referência, variaram de 63 a 84% e as especificidades de 84 a 100%. A sensibilidade do **monolatest** foi de 76% e a especificidade de 98%.

Quatro kits disponíveis comercialmente de aglutinação em lâmina para a detecção de anticorpos heterófilos de MI, foram comparados com outros três kits para a detecção de anticorpos IgM específicos anti-EBV. Foram testados 60 soros de pacientes com sintomas compatíveis com MI. A sensibilidade dos kits de aglutinação em lâmina variou entre 70 e 80%. A sensibilidade do **monolatest** foi de 80%.

Foram testados catorze kits comerciais para a detecção de anticorpos heterófilos de MI. A sensibilidade com amostras patológicas foi avaliada com 73 amostras positivas de IgM anti-VCA. As sensibilidades observadas variaram de 83,6 a 100%. A sensibilidade do **monolatest** foi de 100% e a especificidade de 99,4%.

Estes dados demonstram claramente que o **monolatest** é altamente sensível e específico para o diagnóstico de MI.

1. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. CDC/NIH manual, 4th Edition, 1999.
2. Davidsohn I. Serologic Diagnosis of Infectious Mononucleosis. JAMA 108: 289-295, 1937.
3. Davidsohn I, Stern K and Kashiwagi C. The Differential Test for Infectious Mononucleosis. Amer J Clin Pathol 21: 1101-1113, 1951.
4. Medical Devices Agency Evaluation Report: An evaluation of fourteen commercial kits used to screen for the presence of infectious mononucleosis (MDA/98/63). Medical Devices Agency Evaluation Centre. UK National Health Service.
5. Gray JJ, Caldwell J and Sillis M. The rapid serological diagnosis of infectious mononucleosis. Journal of Infection 25: 39-46, 1992.
6. Henle G, Henle W and Diehl V. Relation of Burkitt's Tumor-Associated Herpes-Type Virus to Infectious Mononucleosis. Proc Nat Acad Sci USA 59: 94-101, 1968.

References

7. Linderholm M, Boman J, Juto P and Linde A. Comparative Evaluation of Nine Kits for Rapid Diagnosis of Infectious Mononucleosis and Epstein-Barr Virus-Specific Serology. J Clin Microbiol 32: 259-261, 1994.
8. Paul JR and Bunnell WW. The Presence of Heterophile Antibodies in Infectious Mononucleosis. Amer J Med Sci 183: 90-104, 1932.
9. Pozzetto B, Mbida AD, Bourlet T, Grattard F and Bonneval L. Comparative evaluation of eight commercial tests for the diagnosis of infectious mononucleosis by Epstein-Barr virus-specific or -non specific serology. Serodiagnosis and Immunotherapy in Infectious Disease 8: 221-223, 1997.
10. Virtanen, S. Incidence of Infectious Mononucleosis Antibodies in Blood Donors. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 56: 53-56, 1962.