

Test rapido su card per la ricerca degli anticorpi eterofili IgM anti-mononucleosi in siero, plasma e sangue intero

PRINCIPIO

La mononucleosi infettiva è una malattia causata dal virus di Epstein Bar (EBV). Gli anticorpi eterofili appaiono dopo 1-3 settimane dalla sintomatologia nell'85-95% dei casi.

Il test IM card permette di effettuare la determinazione qualitativa degli anticorpi anti-mononucleosi classe IgM nel siero plasma o sangue intero. Il metodo utilizza un coniugato di estratto di sangue di cavallo e anticorpi anti-IgM. Nella membrana del test il coniugato si lega alle IgM eterofile formando un complesso antigene-anticorpo, producendo una banda colorata nella zona di ricezione **B**. In assenza di anticorpi IgM non si producono bande colorate nella zona di ricezione B ma solo nella zona del controllo **C**.

REATTIVI

R1 Vaschette di reazione	10
R2 Diluente	1

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Le vaschette di reazione sono stabili sino alla data di scadenza riportata sulla confezione, conservate a temperatura ambiente (15-25°C) o refrigerate (4-8°C).
- Non congelare il kit.

CAMPIONI

Siero, plasma e sangue intero (EDTA, citrato o eparina).

Il sangue intero può essere usato immediatamente per il test o conservato a 2-8°C fino a 3 giorni.

Plasma e siero possono essere conservati a 2-8°C fino a 2 settimane o a -20°C fino ad 1 anno.

LIMITI DEL METODO

- Il test è specifico per la ricerca qualitativa degli anticorpi eterofili (IgM) nei campioni di siero, plasma e sangue intero.
- Un risultato negativo non esclude un'infezione di EBV in quanto tali anticorpi potrebbero essere in quantità non rilevabile.
- Il test deve essere valutato assieme agli altri dati dell'indagine diagnostica.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

- Portare i campioni e le card a temperatura ambiente prima di eseguire il test.
- Riempire la pipetta con il campione e, tenendolo in posizione verticale, dispensare 1 goccia (20 µl) di siero e plasma o 2 gocce (40 µl) di sangue intero nel pozzetto S della card.
- Immediatamente aggiungere 3-4 gocce di diluente nel pozzetto S.
- Leggere il risultato dopo 5 minuti. Non leggere oltre i 10 minuti.

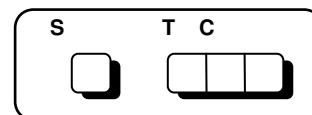
Avvertenze

- Eseguire il test immediatamente
- Trattare i campioni come se contenessero agenti infettivi. Quando la procedura è completata, scartare i campioni dopo la sterilizzazione in autoclave. In alternativa, essi possono essere trattati con soluzione di sodio ipoclorito (da 0.5 a 1%) per un'ora prima dello smaltimento.
- Indossare indumenti protettivi come camici da laboratorio e guanti monouso durante la procedura.
- Evitare il contatto con la pelle e gli occhi durante la raccolta dei campioni ed il test.

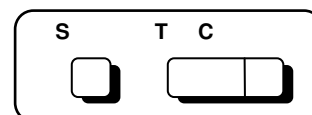
Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

POSITIVO: Comparsa di due bande colorate (**T+C**).



NEGATIVO: Comparsa di una banda colorata (**C**).



INVALIDO: Nessuna comparsa di bande colorate, ripetere il test per probabile imprecisione nella sua esecuzione o deterioramento del reagente.

Note

- In fase acuta il test è positivo nell'80-85% dei casi. Gli anticorpi eterofili sono rilevabili durante il primo mese di malattia e decrescono rapidamente dopo 4 settimane.
- I bambini di età inferiore a 4 anni possono non evidenziare l'anticorpo nel 50% dei casi.
- Utilizzare altri test in supporto per completare la diagnosi clinica.

PRESTAZIONI DEL DISPOSITIVO

Accuratezza

Il test è stato comparato con un analogo test reperibile in commercio per la ricerca di anticorpi (IgM) eterofili in plasma, siero e sangue intero umani. Sono stati analizzati 406 campioni (288 di siero, 103 di plasma e 15 di sangue intero). I risultati della comparazione sono riportati in tabella.

	Positivi	Negativi	Totale
Kit in commercio – Positivi	146	2	148
Kit in commercio – Negativi	3	255	258
Totale	149	257	406

I risultati mostrano che il presente kit ha una sensibilità del 98.6% (146/148), una specificità del 98.8% (255/258) ed una concordanza totale del 98.8% (401/406).

Precisione

Sono stati analizzati in due diversi laboratori 60 campioni. Su 27 campioni positivi tutti e 27 sono risultati positivi mentre su 33 campioni negativi tutti e 33 sono risultati negativi. I dati mostrano una concordanza del 100% con i risultati attesi. Inoltre sono stati testati ogni giorno un controllo positivo ed uno negativo. I risultati mostrano il 100% di accordo per i campioni di controllo.

Sensibilità

Poiché non esiste uno standard per gli anticorpi eterofili anti IM, gli studi di diluizione (test di sensibilità) sono stati eseguiti per comparazione. Sono stati utilizzati due sieri umani positivi per diluizioni seriali eseguite con un siero umano negativo. I risultati sono riportati nelle due tabelle seguenti.



Tabella 1. Diluizione siero #1

Siero#1 Fattore di diluizione	Mono Test	Kit per mono in commercio
1:10	+	+
1:20	+	+
1:30	+	+
1:40	+	+
1:50	+/-	+/-
1:60	-	-

Tabella 2. Diluizione siero #2

Siero#2 Fattore di diluizione	Mono Test	Kit per mono in commercio
1:10	+	+
1:20	+	+
1:30	+/-	+/-
1:40	-	-

Come indicato nelle due tabelle i due sieri positivi hanno titoli diversi. La sensibilità di questo test è molto simile al kit disponibile in commercio come determinato dagli studi di diluizione.

BIBLIOGRAFIA

- Evans, A. S. (1974) The history of infectious Mononucleosis. The American Journal of the Medical Sciences, 267(3): 189-195.
- Roberts, G. H. (1989) The Many Faces of Epstein-Barr Virus. Diagnostics & Clinical Testing, 27: 16-21.
- Khanna, R., Burrows, S.R., and Moss, D. J. (1995) Immune Regulation in EpsteinBarr Virus-Association Diseases, Microbiological Review, 59:387-405.
- Baehner, R. L., and Shultor, S.E., (1967) Infectious Mononucleosis in Childhood. Clinical Pediatrics, 6(7): 393-399.
- Linde, A. (1996) Diagnosis of Epstein - Barr Virus Related Diseases. Scandinavian Journal of infectious Disease Supplement, 100:83-88.
- Evans, A. S., Niederman, J.C., Cenabre, L.C., West, B. and Rechards, V. A. (1975) A Prospective Evaluation of Heterophile and Epstein-Barr Virus-Specific IgM Antibody Test in Clinical and Subclinical infectious Mononucleosis; Specificity and Sensitivity of the Tests and Persistence of Antibody. The Journal of Infectious Diseases, 132:546-554.
- Patarca, R. and Fletcher, M.A. (1995) Structure and Pathophysiology of the Erythrocyte Membrane Associated Paul-Bunnelli Heterophile Virus-Associated Disease. Critical review in Oncogenesis, 6(3.6):305-326.
- Fletcher, M.A. and Woolfolk, B, J. (1971) Immunochemical Studies of Infectious Mononucleosis. Isolation and Characterization of Heterophile Antigens from Hemoglobin-Free Stroma. The Journal of Immunology, 107(3):842-853.

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante

Rapid test for the qualitative detection of IM heterophile IgM antibody in serum, plasma and blood

PRINCIPLE

The Mononucleosis test is a rapid test for the visual, qualitative detection of heterophile antibodies specific to infectious Mononucleosis (IM) in human serum, plasma or whole blood. The test has been designed to detect IM through visual interpretation of color development in the test device, which is a sandwich solid phase gold conjugate immunoassay. The test device contains a membrane strip which is pre-coated with heterophile antigens on the test band region and goat anti-mouse antibody on the control band region. The anti-human IgM antibody-colloidal gold conjugate pad is placed at the end of the membrane. A mixture of colloidal gold conjugate together with the sample and developer buffer will move along the membrane chromatographically by capillary action. When the IM heterophile antibodies are present in the patient sample, the mixture will migrate to the test band region and form a visible line as the antibody complexes with the heterophile antigen. When IM heterophilic antibodies are absent from the sample, no visible color band will form on T region. A colored band will always appear at the control region as a procedural indicator.

REAGENTS

R1 Cards	10
R2 Diluent	1

STORAGE AND STABILITY

- Cards are stable up to expiry date showed on the package, stored at room temperature (15-25°C) or refrigerated (4-8°C).
- Do not freeze the kit.

SAMPLE

Serum, plasma and blood (EDTA, citrate and heparine).
The whole blood may be used for testing immediately or may be stored at 2-8°C up to three days. Serum and Plasma can be stored at 2-8°C up to two weeks or 1 year at -20°C.

LIMITATIONS OF PROCEDURE

- The test is specifically designed to detect heterophilic antibodies (IgM) in serum, plasma and blood. A negative result does not exclude an EBV infection because the antibodies to heterophile antigen may be absent or may not be present in sufficient quantity to be detected.
- Diagnosis of IM should be made by confirmation with other clinical findings.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

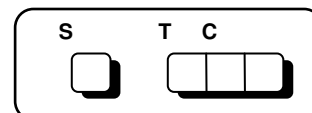
- Bring specimens and cards to room temperature prior to testing.
- Fill the dropper with specimen and, by holding it vertically, dispense 1 drop (20 µl) of serum (or plasma) or 2 drops (40 µl) of blood in the S well of the card.
- Immediately add 3-4 drops of diluent in the S well.
- Read the result after 5 minutes. Do not read after 10 minutes.

Prudences

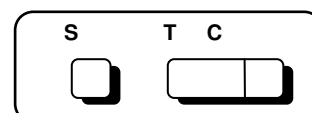
- Patients samples are best performed if tested immediately.
 - Handle all specimens as if they contain infectious agents. Dispose specimens after autoclaving them. Alternatively, they can be treated with solution of Sodium hypochlorite (0.5 to 1%) for 1 hour before disposal.
 - Wear protective clothing (coats, gloves etc.) during the test.
- Attention:** Developer Buffer and controls contain sodium azide that may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. When disposing of these solutions, always flush with copious amounts of water to prevent azide buildup

INTERPRETATION OF RESULTS

POSITIVE: Two coloured band appear (T+C).



NEGATIVE: One coloured band appear in the control zone (C)



INVALID: If there is no distinct colour band visible both in the test window and control window, the test is inconclusive. It is recommended to repeat the test.

Note

- During the acute phase of IM, heterophilic antibodies are detectable in 80-85% of patients. Heterophilic antibodies are detectable during the first month of illness and decrease rapidly after week four.
- Positive results may be persistent for months or even years.
- Children of less than 4 years could not evidence the antibody for the 50% of tests

ANALYTICAL PERFORMANCES

Accuracy

The accuracy of this test was evaluated in comparison to a commercially available qualitative color immuno-chromatographic assay for the detection of IM IgM heterophile antibodies in human serum, plasma or whole blood. Four hundred and six human serum, plasma and whole blood samples (288 serum, 103 plasma and 15 whole blood) were used in the comparison study. The comparison results are summarized in the table below.

	Positivi	Negativi	Totale
Commercially available kit Positive	146	2	148
Commercially available kit Negative	3	255	258
Total	149	257	406

The results indicated that this test demonstrated a Sensitivity of 98.6% (146/148), Specificity of 98.8 % (255/258), and a total agreement of 98.8 % (401/406).

Precision

The precision of the test has been evaluated at two other sites, including a physician's office and an independent clinical laboratory. Out of 27 positive samples with different levels, all (27) results were positive. Out of 33 negative samples, all (33) results were negative. The results obtained from all site studies demonstrated 100% agreement with the expected result. In addition, one positive and one negative control were tested each day. Results showed 100% agreement for control specimens.

Sensitivity

Since there is no sensitivity standard established for IM heterophile antibodies, the following dilution (test sensitivity) studies were performed for comparison purposes. Two mono positive human sera purchased from suppliers were used for the serial dilution in a mono negative human serum. The results of the test sensitivity study are summarized in the tables below.



Table 1. Dilution study of serum #1

Siero#1 Fattore di diluizione	Mono Test	Mono Test commercially available
1:10	+	+
1:20	+	+
1:30	+	+
1:40	+	+
1:50	+/-	+/-
1:60	-	-

Table 2. Dilution study of serum #2

Siero#2 Fattore di diluizione	Mono Test	Mono Test commercially available
1:10	+	+
1:20	+	+
1:30	+/-	+/-
1:40	-	-

As indicated in Tables 2a and 2b, different positive sera have different titers. Sensitivity of the test is very similar to the commercially available test kit as determined by dilution studies.

BIBLIOGRAPHY

- Evans, A. S. (1974) The history of infectious Mononucleosis. The American Journal of the Medical Sciences, 267(3): 189-195.
- Roberts, G. H. (1989) The Many Faces of Epstein-Barr Virus. Diagnostics & Clinical Testing, 27: 16-21.
- Khanna, R., Burrows, S.R., and Moss, D. J. (1995) immune Regulation in EpsteinBarr Virus-Association Diseases, Microbiological Review, 59:387-405.
- Baehner, R. L., and Shultor, S.E., (1967) Infectious Mononucleosis in Childhood. Clinical Pediatrics, 6(7): 393-399.
- Linde, A. (1996) Diagnosis of Epstein - Barr Virus Related Diseases. Scandinavian Journal of infectious Disease Supplement, 100:83-88.
- Evans, A. S., Niederman, J.C., Cenabre, L.C., West, B. and Rechards, V. A. (1975) A Prospective Evaluation of Heterophile and Epstein-Barr Virus-Specific IgM Antibody Test in Clinical and Subclinical infectious Mononucleosis; Specificity and Sensitivity of the Tests and Persistence of Antibody. The Journal of Infectious Diseases, 132:546-554.
- Patarca, R. and Fletcher, M.A. (1995) Structure and Pathophysiology of the Erythrocyte Membrane Associated Paul-Bunnell Heterophile Virus-Associated Disease. Critical review in Oncogenesis, 6(3.6):305-326.
- Fletcher, M.A. and Woolfolk, B, J. (1971) Immunochemical Studies of Infectious Mononucleosis. Isolation and Characterization of Heterophile Antigens from Hemoglobin-Free Stroma .The Journal of Immunology, 107(3):842-853.

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer