



Test di agglutinazione al lattice senza prediluizione per la determinazione degli anticorpi eterofili

PRINCIPIO

La IM lattice è un test di agglutinazione su vetrino per determinazioni qualitative e semiquantitative di anticorpi eterofili (HE) specifici per mononucleosi infettiva (IM). Particelle di lattice coniugate con estratto antigenico di membrane eritrocitarie di bue sono agglutinate quando mescolate con campioni contenenti IM anticorpi eterofili.

SIGNIFICATO CLINICO

La IM è una malattia virale causata dal virus di Epstein Barr che colpisce il sistema reticoloendoteliale ed ha un ampio spettro di manifestazioni cliniche variando dalle forme asintomatiche a quelle acute.

I pazienti normalmente sviluppano anticorpi IgM eterofili transitori, hanno un anormale quadro di globuli bianchi ed anormali funzioni epatiche. La diagnosi della malattia è ottenuta attraverso la determinazione degli anticorpi HE o degli anticorpi Paul-Burnell oppure degli anticorpi contro la struttura virale. Il titolo anticorpale inizialmente diminuisce durante il corso della malattia ed in seguito permane durante la vita del paziente.

REATTIVI

R1 Lattice in particelle coniugato con estratto antigenico delle membrane eritrocitarie di bue, tampone fosfato, pH 7.2. Conservante.


R2 Controllo Positivo tappo rosso: siero umano con Ab anti-IM, titolo $\geq 1/4$. Conservante.

R3 Controllo Negativo tappo blu: siero animale. Conservante.
- Slide a 6 divisioni
- Stirrer

CAMPIONI

Siero fresco. Stabile 7 giorni a 2-8° C o 3 mesi a -20° C. Campioni con presenza di fibrina devo essere centrifugati. Non utilizzare campioni fortemente emolitici o lipemici.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

 I componenti di origine umana sono stati testati e trovati negativi per la presenza di HbsAg, HCV e anticorpi HIV (1/2). Tuttavia maneggiare con cautela come potenzialmente infettivi.

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

CALIBRAZIONE

Il reagente è stato standardizzato contro un controllo interno comparandolo con il metodo di Davidsohn.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Tutti i componenti sono pronti all'uso, e sono stabili fino alla scadenza stampata sull'etichetta se conservati ben chiusi a 2-8° C e protetti da contaminazione durante l'uso. Non congelare: il congelamento può cambiare la funzionalità del test.

Deterioramento del reagente: presenza di particelle e torbidità.

MATERIALI AUSILIARI

Agitatore rotante con velocità regolabile a 80/100 r.p.m.
Vortex e pipette (50ul)

PROCEDIMENTO QUALITATIVO

- Portare i reattivi ed i campioni a 15-25° C. La sensibilità del test può essere ridotta dalle basse temperature.
- Dispensare 50 μ l del campione ed una goccia dei controlli positivi e negativi separatamente nelle zone circolari dello slide.
- Agitare il reagente R1 (IM lattice) vigorosamente o con un vortex prima dell'uso ed aggiungere una goccia (50 μ l) adiacente al campione da testare.
- Mescolare le gocce con uno stirrer, spandendole per tutta la superficie del cerchio. Utilizzare un differente stirrer per ogni campione.

- Mettere lo slide sull'agitatore rotante a 80-100 r.p.m. per 2 minuti. Risultati falsi positivi possono apparire se la lettura è effettuata dopo i 2 minuti.

PROCEDIMENTO SEMIQUANTITATIVO

- Preparare una serie di diluizioni al raddoppio del campione in soluzione salina 9 g/l.
- Procedere con ogni diluizione come per il metodo qualitativo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare microscopicamente la presenza o l'assenza di agglutinazioni visibili subito dopo aver tolto lo slide dall'agitatore.

La presenza di agglutinazione indica un titolo $\geq 1/28$ degli anticorpi specifici anti-IM secondo il metodo di Davidsohn.

Il titolo, nel procedimento semiquantitativo, è definito come la diluizione più alta che mostra agglutinazione.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si raccomandano controlli positivi e negativi per monitorare la performance della procedura, così come un campione comparativo per una migliore interpretazione dei risultati.

Tutti i risultati diversi dal controllo negativo sono da considerarsi positivi.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

- Sensibilità analitica: titolo uguale a 1/28 secondo il metodo Davidsohn. alle condizioni descritte.
- Effetto prozona: non ci sono effetti prozona fino alla concentrazione di 1/256
- Sensibilità diagnostica: 100%
- Specificità diagnostica: 100%

INTERFERENZE

L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 10 g/l.

La bilirubina non interferisce sino alla concentrazione di 20 mg/dl.

Lipemia non interferisce sino alla concentrazione di 10 g/l.

Il fattore reumatoide non interferisce alla concentrazione di 300 IU/ml.

Altre sostanze possono interferire.

LIMITI DEL TEST

- Si possono rilevare falsi positivi in alcune aree geografiche dove il siero di cavallo è utilizzato nelle vaccinazioni

- Pazienti con leucemia, linfoma di Burkitt, carcinoma pancreatico, epatite virale e infezioni da CMV possono dare risultati falsamente positivi.

- Risultati falsamente negativi si possono avere nei casi di IM con ritardo nella risposta anticorpale. In tal caso ripetere il test ad intervalli di diversi giorni.

- Una diagnosi non può essere effettuata con un singolo test, ma deve essere integrata da altre indagini specifiche.

BIBLIOGRAFIA

Summaya CV et al. Manual of Clinical laboratory Immunology 4th ed p.568 Wasington Dc ASM, 1992.

Merlin JR et al. Human Pathol. 1986 ; 17 :2.

Paul JR et al. AM J Med Sci 1932 ; 183 :90.

Andiman WA. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 3rd ed. P. 509 Wasigton, DC AMS 1986.

Henle W et al. Human Path 1974 ; 5 :551.

Barbara A Levey et al. Journal of Clinical Microbiology 1980;; 11:256-262.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Laboratory test, 4th ed AACC press. 1995.

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Rischio biologico



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



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante



Agglutination latex test without predilution for determination of heterophile antibodies

PRINCIPLE

The IM latex is a slide agglutination test for the qualitative and semiquantitative detection of heterophile antibodies (HE) specific for infectious mononucleosis (IM).

Latex particles coated with antigenic extract of beef erythrocytes membranes are agglutinated when mixed with sample containing Im heterophile antibodies.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Infectious mononucleosis is a viral disease caused by Epstein-Barr virus that affects the reticuloendothelial system and has a broad spectrum of clinical presentations, ranging from asymptomatic to severe. The patients usually develop transient IgM heterophile antibodies, have an abnormal white cell picture, and abnormal liver function.

Disease diagnosis is obtained through the detection of HE antibodies or Paul-Burnell antibodies, or antibodies anti-viral structural antigens. The former generally decrease along the disease course, while the later remain along the patient life.

REAGENTS

R1 Latex particles coated with antigenic extract of beef erythrocytes membranes, phosphate buffer, pH 7.2. Preservative.


R2 Positive control red cap: human serum with an anti-IM antibodies titer $\geq 1/4$. Preservative.

R3 Negative control blue cap: animal serum. Preservative.
- Slide with 6 divisions
- Stirrer

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.
Samples with presence of fibrin should be centrifuged.
Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PRECAUTION IN USE

 *Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HbsAg, HCV and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.*

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

CALIBRATION

The reagent sensitivity has been standardized an Internal Control by comparing methods with the Davidsohn method.

STORAGE AND STABILITY

All the kit components are ready to use, and will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closet at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test

Reagents deterioration: presence of particles and turbidity.

ADDITIONAL EQUIPMENT

Mechanical rotator with adjustable speed at 80/100 r.p.m.
Vortex mixer and pipettes (50ul)

QUALITATIVE PROCEDURE

1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50µl of the sample and one drop of each positive and negative controls into separate circles on the slide test.
3. Mix the IM latex reagent vigorously or on a vortex mixer before using and add one drop (50 µl) next to the sample to be tested.
4. Mix the drop with a stirrer, spreading them over the entire surface of the circle. Use different stirrer for each sample.
5. Place the slide on a mechanical rotator at 80-100 r.p.m. for 2 minutes. False positive results could appear if the test is read later than two minutes.

SEMIQUANTITATIVE PROCEDURE

1. Make serial two fold dilutions of the sample in 9 g/l saline solution.
2. Proceed for each dilution as in the quantitative method.

READING AND INTERPRETATION

Examine macroscopically the presence or absence of visible agglutination immediately after removing the slide from the rotator.

The presence of agglutination indicates a titer $\geq 1/28$ of the specific anti-IM antibodies by the Davidsohn method.

The titer in the semi-quantitative method, is defined as the highest dilution showing a positive result.

QUALITY CONTROL

Positive and negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation. All results different from the negative control results will be considered as a positive.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Analytical sensitivity: titer equal to 1/28 by the Davidsohn method under the described assay conditions.
2. Prozone effect: no prozone effect was detected up to 1/256 titer.
3. Diagnostic sensitivity: 100%
4. Diagnostic specificity: 100%

INTERFERENCES

Hemoglobin does not interfere up to concentration of 10 g/l.

Bilirubin does not interfere up to concentration of 20 mg/dl.

Lipemia does not interfere up to concentration of 10 g/l.

Rheumatoid factors do not interfere up to concentration of 300 IU/ml.

Other substances may interfere.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- False positive results may be obtained in some geographical areas where the "horse serum" is used as a prophylactic measure (vaccination).

- Patients suffering from leukaemia, Burkitt's lymphoma, pancreatic carcinoma, viral hepatitis, CMV infections and others, can result false positive reactions.

- False negative result have been reported in case of IM which persistently remain seronegative for IM heterophile antibodies or as a consequence of a delay IM heterophile antibodies response. In this case, repeat testing samples obtained at intervals of several days.

- Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

Summaya CV et al. Manual of Clinical laboratory Immunology 4th ed p.568 Wasington Dc ASM, 1992.

Merlin JR et al. Human Pathol. 1986 ; 17 :2.

Paul JR et al. AM J Med Sci 1932 ; 183 :90.

Andiman WA. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 3rd ed. P. 509 Wasigton, DC AMS 1986.

Henle W et al. Human Path 1974 ; 5 :551.

Barbara A Levey et al. Journal of Clinical Microbiology 1980;; 11:256-262.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Laboratory test, 4th ed AACC press. 1995.

SYMBOLS



Red instruction for use



Biological risk



CE mark (requirement of 98/78 CE regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer