

88-0922-1
Revised: November 1999

BBL™ MonoSlide™ Test

English: pages 1 - 4
Français : pages 5 - 7
Deutsch: Seiten 8 - 10

Italiano: pagine 11 - 13
Español: páginas 14 - 16

One-Minute Color-enhanced* Differential Slide Test for Infectious Mononucleosis, using serum or plasma.

INTENDED USE

The **BBL™ MonoSlide™** Mononucleosis Test is a rapid, differential test for the serological detection of IgM class heterophile antibodies associated with infectious mononucleosis.

SUMMARY AND EXPLANATION

Paul and Bunnell¹ were first to suggest the use of hemagglutination of sheep erythrocytes as a method of detecting heterophile antibodies associated with infectious mononucleosis. Other antibodies such as Forssman, which occasionally appeared in sera and caused hemagglutination, were found by Davidsohn^{2,3} to be absorbed out with guinea pig kidney antigen, while the antibody of infectious mononucleosis remained reactive. Species of erythrocytes other than sheep, particularly the horse erythrocytes, have been shown by Beer⁴⁻⁶ and others to react similarly to sheep erythrocytes, but with greater sensitivity.

Heterophile antibodies of infectious mononucleosis may be present as early as the fourth day to indicate a positive diagnosis, and practically always by the twenty-first day of illness persisting as long as several months. Infectious mononucleosis has been reported to be associated with the Epstein-Barr Virus.^{8,9} Positive heterophile tests have been reported with hepatitis, rubella, leukemia,¹⁰ rheumatoid arthritis, Burkitt's lymphoma,¹¹ and other pathological conditions.^{12,13} Since false positive and false negative results occur with all known tests,¹⁴ results should be correlated with clinical and hematological findings.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

This test utilizes a disposable card, guinea pig kidney antigen for absorption, and specially treated horse erythrocytes (color-enhanced) to increase specificity, sensitivity and enhance readability. No special equipment is required to read the **BBL™ MonoSlide™** Mononucleosis Test.

REAGENTS

- Reagent A,** **BBL™ MonoSlide™** Guinea pig kidney antigen, with 0.1% sodium azide (preservative).
Reagent B, **BBL™ MonoSlide™** Preserved horse erythrocytes, with 0.1% sodium azide (preservative).
Control +, **BBL™ MonoSlide™** Positive control, human serum, with 0.1% sodium azide (preservative).
Control -, **BBL™ MonoSlide™** Negative control, human serum, with 0.1% sodium azide (preservative).

Precautions: *in vitro* Diagnostic

This Product Contains Dry Natural Rubber.

Reagents: Do not use beyond the expiration date. Upon removal from the refrigerator, allow reagents to warm to room temperature before use. Do NOT mix reagents from different kit lot numbers.

Controls: Do not use the kit if positive and negative controls do not yield appropriate results.

The serum controls are derived from human blood tested by an FDA (U.S. Food and Drug Administration)-approved method for the presence of the antibody to HIV (human immunodeficiency virus) and HBsAg (hepatitis B surface antigen) and found to be nonreactive.

WARNING: Because no test method can offer complete assurance that HIV, hepatitis B virus, or other infectious agents are absent, SPECIMENS AND THESE REAGENTS SHOULD BE HANDLED AS THOUGH CAPABLE OF TRANSMITTING AN INFECTIOUS DISEASE. The FDA recommends such material be handled at a Biosafety Level 2. BSL 2 is referenced in the Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH) manual, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*.

*When used on serum or plasma specimens

**BECTON
DICKINSON**

TRIM SIZE: 5 1/2" W x 8 1/2" L
COLOR: Burgundy, PMS #222
DRAFT: 12/27/94, NEG.

Reagents contain sodium azide which may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Test Cards: Cards must be flat for proper reactions. If necessary, flatten cards by bowing back in a direction opposite to that of the curl. Care should be taken not to finger-mark the test areas, since this may result in an oily deposit and improper test results. Use each card once and discard. Store cards in the original package in a dry area at room temperature.

Pipettes and Dropper Rod Assemblies: Hold vertically when dispensing free-falling drops of reagents and sample; otherwise, test accuracy may be compromised due to imprecise volume delivery. Before dispensing reagents, clear the dropper rod channel by squeezing the dropper bulb.

Storage of Reagents: Refrigerate at 2 to 8°C. DO NOT FREEZE. Prolonged day-to-day room temperature storage may compromise reagent stability; therefore, reagents should be recapped and returned to refrigeration when not in use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum/Plasma: Serum or plasma may be used with the **MonoSlide** Mononucleosis Test, provided whole blood is collected by an acceptable medical technique. Avoid using grossly hemolyzed sera. Serum should be clear and free of bacterial contamination.

Specimens can be stored at 2 to 8°C for 24 h. For prolonged storage, specimens should be frozen (-20°C). It is not necessary to inactivate sera with heat before use. Plasma with EDTA or Acid Citrate Dextrose (ACD) as an anticoagulant can be used.

No special preparation of the patient is required prior to specimen collection.

PROCEDURES

Review "Precautions" and "Specimen Collection and Preparation" prior to performing procedures. The testing area, reagents, test specimens and test components should be at room temperature when used.

Materials Provided:	No. 240901 (60 Tests)
Reagent A, MonoSlide™ Guinea Pig Kidney Antigen	3.0 mL
Reagent B, MonoSlide Preserved Horse Erythrocytes	3.0 mL
Control +, MonoSlide Positive Control (human serum)	1.0 mL
Control -, MonoSlide Negative Control (human serum)	1.0 mL
Test Cards, and test disposables and accessories.	20

Materials Not Provided: Timer, test tubes (13 x 75 mm), 0.85% sodium chloride solution, transfer pipettes for dilutions.

Also required are the necessary laboratory equipment used for preparation, storage and handling of serologic specimens.

Qualitative Test: (Serum and Plasma):

Remove the caps on **Reagents A** and **B** and replace with the dropper rod assemblies provided. Determine the number of test circles required (one circle for each patient sample or control to be tested). The test card may be separated at the perforation line to remove and save extra test circles for future testing.

Pipettes – To use, squeeze bulb of pipette and insert into sample. Release pressure to draw up the sample. Dispense free-falling drops by gently squeezing the pipette while holding vertically over the test card. Use a separate pipette for each sample. When handling pipettes, avoid touching the tip.

1. Gently shake **Reagent A** to resuspend antigen. Add one drop to the left side of the test circle on the card.
2. Invert **Reagent B** several times to mix thoroughly. Add one drop to the right side of the test circle.
3. Using a pipette, add one drop of patient serum or plasma to **Reagent A** on the left side of the test circle.



4. Invert the pipette and use the paddle end to THOROUGHLY mix (10 to 15 circular strokes) **Reagent A** (clear liquid) and sample (patient or control). Gradually mix this solution into **Reagent B** (reddish-brown liquid), covering entire test circle.
5. Rock the card by hand SLOWLY and GENTLY for one min (approximately 13 – 16 rocks per minute).
6. IMMEDIATELY read results macroscopically. Reading with direct light source is not necessary for test interpretations.



Quantitative Test (Serum and Plasma):

Titration –

1. Make serial dilutions of serum or plasma being tested using 0.85% sodium chloride, starting with a 1:2 dilution and continuing with 1:4, 1:8, 1:16, etc.
2. Test the diluted samples following the procedure outlined under “Qualitative Test”.

Reading Results (Serum/Plasma) –

1. A positive infectious mononucleosis reaction will have dark clumps against a blue-green background, distributed uniformly throughout the test circle (see Figure 1).

Figure 1



2. A negative reaction will have no agglutination, but may have fine granularity against a brown/tan background. Peripheral color development associated with fine granularity should be interpreted as negative; i.e., a faint blue-green color halo on the periphery of the test circle should not be interpreted as positive (see Figure 2).

Figure 2



Quantitative Test: The highest dilution in which agglutination occurs is the end point.

The **MonoSlide™** Mononucleosis Test has been adjusted to provide a positive test approximating the sensitivity of a guinea pig kidney absorbed Davidsohn sheep cell titer of 1:28 to 1:56. Therefore, a quantitative result can be approximated by multiplying the reciprocal of the highest dilution in which agglutination occurs (end point) by 28. While no correlation has been found between the severity of illness and the heterophile titer,⁷ it may be of interest to the clinician in following the course of the disease.

Quality Control: The **MonoSlide™** Controls + and – should be used to check the reagents upon receipt of the kit. This is suggested for two reasons: 1) To ensure proper kit performance, and 2) to familiarize the user with positive and negative test result interpretations. When performing positive and negative control sera, follow instructions under “Procedures, Qualitative Test.” Under Step 3, add one drop of each control to a separate test circle in place of patient serum.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURES

Diagnosis of infectious mononucleosis should be based upon the results of all clinical and laboratory findings.

Some segments of the population do not produce detectable heterophile antibody, e.g., approximately 50% of children under 4 years of age, and 10% of adolescents.^{15,16}

Detectable levels of heterophile antibody may persist for months, and more rarely for years, in some individuals.^{16,17}

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

One hundred thirty-four serum specimens were evaluated for heterophile antibody by the **BBL™ MonoSlide™** test and a leading latex agglutination test. Both tests yielded the same results for ninety-nine positives and thirty negative sera. The five remaining sera were negative by the **BBL™ MonoSlide** test and positive by the latex test. These sera were all negative by further tests using the Davidsohn Differential Tube procedure.¹⁸

AVAILABILITY**Cat. No. Description**

240901 **BBL™ MonoSlide™** Test, 30 test kit, qualitative/quantitative.

For specific catalog number information, visit our website <http://www.bd.com/microbiology>, or contact the nearest Becton Dickinson Microbiology Systems office.

REFERENCES

1. Paul, J.R. and Bunnell, W.W., *Am. J. Med. Science*, 183:90-104, 1932.
2. Davidsohn, I., *J.A.M.A.*, 108:289-295, 1937.
3. Davidsohn, I., *Amer. J. Clin. Path. Tech. Supp.*, 2:56-60, 1938.
4. Beer, J.P., *Clin. Invest.*, 15:59-936.
5. Barett, A.M., *J. Hyg.*, 41:330-343, 1941.
6. Lee, C.L., Davidsohn, I. and Slaby, S., *Am. J. Clin. Path.* 49:3-11, 1968.
7. Glade, P.R. and Chessing, L.N., *Brennenmann's Practice of Pediatrics*, Vol. II, Chpt. 47A.
8. Henle, G., Henle, W., Diehl, V., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 59:94-101, 1968.
9. Lehane, D.E., *J.A.M.A.*, 212:2240-2242, 1970.
10. Dameshek, W. and Gunz, F., *Leukemia*, 2 ed. Grune & Stratton Inc. New York, 1964.
11. Horwitz, C.A., Polesky, H., Stillman, T., Wark, P.C., Henle, G. & Henle, W., *Brit. Med. J.*, 1:591, 1973.
12. Stevens, D.A., *J.A.M.A.*, 219:897-898, 1972.
13. Phillips, G.M., *J.A.M.A.*, 222:585, 1972.
14. Davidsohn, I. and Henry, J.B. (ed) *Todd-Sanford Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, 14th Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1969.
15. Schmitz, H., et. al., *Med. Microbiol. Immunol.* 158:58-63, 1972.
16. Evans, A.S., et. al., *J. Infec. Dis.* 132:546-554, 1975.
17. Askinazi, C., et. al., *J.A.M.A.* 236:1492-1493, 1976.
18. Data on file at Becton Dickinson Microbiology Systems.

TECHNICAL INFORMATION: In the United States telephone Technical Services, toll free (800) 638-8663.

© 1999 Becton Dickinson and Company
BBL and MonoSlide are trademarks of
Becton Dickinson and Company.

**BECTON
DICKINSON**

Manufactured for:
Becton Dickinson Microbiology Systems
Becton Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA



Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

MADE
IN
U.S.A.

88-0922-1
Révisé : 11-99

Produit enregistré auprès de l'ADM

FRANÇAIS

Test BBL MonoSlide

Test-minute sur lame d'identification différentielle et colorimétrique*
de la mononucléose infectieuse sur sérum ou plasma.

APPLICATION

Le test **BBL MonoSlide** Mononucléose est un test rapide et différentiel de détection sérologique des anticorps hétérophiles de la classe IgM associés à la mononucléose infectieuse.

RESUME ET EXPLICATION

Paul et Bunnell¹ ont été les premiers à suggérer l'usage de l'hémagglutination des érythrocytes de mouton comme méthode de détection des anticorps hétérophiles associés à la mononucléose infectieuse. D'autres anticorps, comme ceux de type Forssman, qui apparaissent occasionnellement dans le sérum et sont à l'origine d'hémagglutination, ont été découverts par Davidsohn.^{2,3} Ces anticorps peuvent s'agglutiner sur des antigènes d'extrait de rein de cobaye alors que ceux de la mononucléose infectieuse restent libres. Beer⁴⁻⁶ et coll. ont montré que des érythrocytes provenant d'espèces différentes de celle du mouton, en particulier du cheval, réagissaient d'une façon similaire aux érythrocytes de mouton mais avec une sensibilité supérieure.

Les anticorps hétérophiles de la mononucléose infectieuse peuvent être présents dès le quatrième jour indiquant ainsi un diagnostic positif. Ils sont pratiquement toujours présents au 21^{ème} jour de la maladie et peuvent persister plusieurs mois. La mononucléose infectieuse a été décrite comme étant associée au virus d'Epstein-Barr.^{8,9} La positivité d'autres tests d'identification d'anticorps hétérophiles a été rapportée avec l'hépatite, la rubéole, la leucémie,¹⁰ la polyarthrite rhumatoïde, le lymphome de Burkitt¹¹ ainsi qu'avec d'autres pathologies.^{12,13} Des résultats faussement positifs et faussement négatifs apparaissent avec tous les tests connus,¹⁴ les résultats doivent être corrélés au tableau clinique ou hématologique.

PRINCIPES DE LA METHODE

Ce test est réalisé avec une carte jetable, des extraits antigéniques de rein de cobaye pour l'absorption et des érythrocytes de cheval spécialement traités (accroissement colorimétrique) afin d'augmenter la spécification, la sensibilité et accroître la lisibilité. Aucun équipement spécial n'est nécessaire pour la lecture des résultats du test **BBL MonoSlide** Mononucléose.

REACTIFS

- Réactif A**, antigène de rein de cobaye **BBL MonoSlide**, contenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Réactif B, érythrocytes de cheval préservés **BBL MonoSlide**, contenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Control +, contrôle positif **BBL MonoSlide**, sérum humain, contenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Contrôle -, contrôle négatif **BBL MonoSlide**, sérum humain, contenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).

Précautions : diagnostic *in vitro*

Ce produit contient du caoutchouc naturel séché.

Réactifs : utiliser avant la date de péremption. Après avoir sorti les réactifs du réfrigérateur, les laisser se réchauffer à température ambiante avant de les utiliser. NE PAS mélanger des réactifs provenant de coffrets portant des numéros de lot différents.

Contrôles : ne pas utiliser le coffret si les contrôles positif et négatif ne donnent pas les résultats appropriés.

Les sérums de contrôle sont fabriqués à partir de sang humain, qui a satisfait aux tests prouvant l'absence de contamination par le virus HIV (virus d'immunodéficience humaine) et par HBsAg (antigènes de surface de l'hépatite B) exigés par la FDA (U.S. Food and Drug Administration).

AVERTISSEMENT : étant donné qu'aucune méthode d'analyse ne peut apporter une garantie absolue de l'absence de l'HIV, du virus de l'hépatite B ou d'autres agents infectieux, LES ECHANTILLONS ET CES REACTIFS DEVONT ETRE MANIPULES COMME S'ILS ETAIENT SUSCEPTIBLES DE TRANSMETTRE UNE MALADIE INFECTIEUSE. La U.S. FDA recommande de manipuler ce matériel avec grande prudence (niveau de sécurité 2 - voir manuel des U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH), *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*).

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium qui peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Tests sur carte : les cartes doivent être bien plates pour donner des réactions justes. Si nécessaire les aplatir en les faisant bomber dans le sens inverse de l'incurvation. Bien veiller à ne pas laisser d'empreintes de doigts sur les zones test car tout dépôt gras risque de fausser les résultats. N'utiliser chaque carte qu'une seule fois, puis la jeter. Conserver les cartes neuves dans l'emballage d'origine à l'abri de l'humidité et à température ambiante.

Pipettes et compte-gouttes : laisser s'écouler librement les gouttes de réactif et d'échantillon en maintenant verticalement le matériel ; dans le cas contraire, la précision du test peut être compromise en raison de l'inexactitude du volume déposé. Avant de jeter les réactifs, vider le compte-gouttes en appuyant sur la pomme.

Conservation des réactifs : réfrigérer à une température comprise entre 2 et 8 °C. NE PAS CONGELER. Après usage, reboucher les flacons de réactif puis le remettre au réfrigérateur car toute exposition prolongée et répétée quotidienne à température ambiante peut compromettre la stabilité des réactifs.

* en cas d'utilisation d'échantillons sériques ou plasmatiques

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Sérum/plasma : sérum et plasma peuvent être utilisés avec le test **MonoSlide** Mononucléose à condition que du sang total ait été prélevé dans des conditions médico-techniques acceptables. Ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés. Les sérums doivent être propres et exempts de contamination bactérienne.

Les échantillons peuvent être stockés entre 2 et 8 °C pendant 24 h. En cas de stockage prolongé, les échantillons doivent être congelés (-20 °C). Il n'est pas nécessaire d'inactiver les sérums par la chaleur avant usage. Les plasmas recueillis sur anticoagulants tels que EDTA ou citrate ACD peuvent être utilisés.

Aucune préparation du malade n'est requise avant le prélèvement de l'échantillon.

MODE OPERATOIRE

Relire les paragraphes "Précautions" et "Prélèvement et préparation des échantillons" avant de procéder au test. Lors de l'analyse, le plan de travail, les réactifs, les échantillons et les composants du test doivent tous être à température ambiante.

Matériel fourni :**N° 240901
(60 tests)**

Réactif A ,	antigène de rein de cobaye MonoSlide	3,0 mL
Réactif B ,	erythrocytes de cheval préservés MonoSlide	3,0 mL
Contrôle + ,	contrôle positif MonoSlide (sérum humain)	1,0 mL
Contrôle - ,	contrôle négatif MonoSlide (sérum humain)	1,0 mL

Tests sur carte, 20
accessoires pour le test et matériel jetable.

Matériel non-fourni : minuterie automatique, tests sur tube (13 x 75 mm), solution de chlorure de sodium à 0,85 %, pipettes de transfert pour dilutions.

L'équipement et le matériel de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation des échantillons sérologiques sont également nécessaires.

Test qualitatif : (sérum et plasma) :

Déboucher les **Réactifs A** et **B** et placer le compte-gouttes prévu à cet effet. Déterminer le nombre de cercles de test nécessaires (un cercle pour chaque prélèvement sur patient ou contrôle à tester). La carte du test peut être séparée au niveau de la ligne perforée pour ôter et récupérer des cercles supplémentaires pour de prochains tests.

Utilisation de la pipette – presser la pomme et plonger la pipette dans l'échantillon. Cesser de presser la pomme pour faire monter le contenu. Laisser s'écouler librement les gouttes en pressant délicatement la pipette et en maintenant verticalement cette dernière au-dessus de la carte du test. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque échantillon. Eviter de toucher l'embout pendant la manipulation des pipettes.

1. Agiter délicatement le **Réactif A** afin de resuspendre l'antigène. Ajouter une goutte sur le côté gauche du cercle figurant sur la carte.
2. Agiter plusieurs fois par retournement le **Réactif B** pour bien le mélanger. Ajouter une goutte sur le côté droit du cercle.
3. A l'aide d'une pipette, ajouter une goutte de prélèvement sérique ou plasmatique sur le **Réactif A** déposé sur le côté gauche du cercle.
4. Retourner la pipette et utiliser l'embout pour mélanger VIGOREUSEMENT (10 à 15 mouvements circulaires) le **Réactif A** (liquide transparent) et l'échantillon (patient ou contrôle). Mélanger graduellement cette solution dans le **Réactif B** (liquide brun rougeâtre), en recouvrant la surface du cercle de test.
5. Agiter LENTEMENT et DELICATEMENT la carte à la main pendant une minute (approximativement 13 à 16 fois par minute).
6. Lire IMMEDIATEMENT les résultats à l'oeil nu. La lecture à une source lumineuse directe n'est pas nécessaire pour l'interprétation du test.

FPO

FPO

FPO

FPO

Test qualitatif (sérum et plasma) :**Titration -**

1. Préparer différentes dilutions du sérum ou du plasma à tester en utilisant 0,85 % de chlorure de sodium, en commençant avec une dilution au 1/2 et en continuant au 1/4, 1/8, 1/16, etc.
2. Tester les échantillons dilués en suivant les procédures décrites dans la rubrique "Test qualitatif".

Lecture des résultats (sérum/plasma) -

1. Une réaction positive de mononucléose infectieuse se caractérise par une agglutination foncée sur un fond bleu-vert, distribuée uniformément sur toute la surface du cercle de test (voir Figure 1).

Figure 1

2. Une réaction négative ne présente aucune agglutination, mais peut être associée à une granulométrie fine sur fond brun/brun clair. Cette association de couleur à une granulométrie fine localisée à la périphérie du cercle doit être interprétée comme négative ; c'est-à-dire qu'un ton bleu-vert à la périphérie du cercle de test ne doit pas être interprété comme positif (voir Figure 2).

Figure 2

Test quantitatif : la plus forte dilution pour laquelle l'agglutination a toujours lieu correspond au point final.

Le test **MonoSlide** Mononucléose a été ajusté afin de fournir un test positif se rapprochant de la sensibilité obtenue pour un titre en anticorps de 1/28 au 1/56 par la technique de Davidsohn basée sur l'absorption des érythrocytes de mouton sur un extrait de rein de cobaye. Ainsi, un résultat quantitatif peut être approché en multipliant par 28 l'inverse de la plus forte dilution pour laquelle apparaît toujours une agglutination (point final). Alors qu'aucune corrélation n'a été observée entre la sévérité de la maladie et le titre en anticorps hétérophiles,⁷ ce dosage peut présenter un intérêt pour le clinicien dans le suivi de la maladie.

Contrôle de qualité : les contrôles + et - **MonoSlide** doivent être utilisés afin de contrôler les réactifs dès réception du coffret. Cela est suggéré pour deux raisons : 1) pour assurer une performance correcte du coffret, et 2) pour familiariser l'utilisateur aux interprétations des résultats de tests positifs et négatifs. Suivre les instructions dans la rubrique "Procédures, Test qualitatif" pour les tests de contrôle de sérum positif ou négatif. A l'étape 3, déposer une goutte de réactif de chaque contrôle sur un cercle de test différent au lieu du sérum d'un patient.

LIMITES DES METHODES

Le diagnostic de la mononucléose infectieuse doit se baser sur l'observation clinique et les résultats biologiques.

Certaines sous-populations ne produisent pas d'anticorps hétérophiles détectables, comme par exemple, environ 50 % des enfants de moins de 4 ans et 10 % des adolescents.^{15,16}

Chez certains individus, des taux détectables d'anticorps hétérophiles peuvent persister pendant plusieurs mois, mais plus rarement sur des années.^{16, 17}

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Cent trente-quatre sérums ont été testés pour détecter la présence d'anticorps hétérophiles en utilisant le test **BBL MonoSlide** et une épreuve d'agglutination au latex parmi les plus utilisées. Les deux tests ont donné le même résultat avec 129 sérums (99 positifs et 30 négatifs). Les cinq sérums résiduels ont donné un résultat négatif avec le test **BBL MonoSlide** et un résultat positif avec l'épreuve d'agglutination au latex. Ces sérums ont tous donné un résultat négatif lors de tests supplémentaires effectués avec le test différentiel de Davidsohn réalisé en tube.¹⁸

MATERIEL DISPONIBLE**N° cat. Description**

240901 Test **BBL MonoSlide**, coffret pour 30 tests, qualitatif/quantitatif.

Pour connaître un numéro de catalogue particulier, visiter notre site sur le web <http://www.bd.com/microbiology>, ou contacter le service Becton Dickinson Microbiology Systems le plus proche.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" dans le texte anglais.

**BECTON
DICKINSON**

Fabriqué pour :
Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

88-0922-1
Revidiert: 11-99

DEUTSCH

BBL MonoSlide Test

Farbverstärkter* Ein-Minuten-Objektträgerstest zur Differentialdiagnose von infektiöser Mononukleose bei Verwendung von Serum oder Plasma.

VERWENDUNGSZWECK

Der **BBL MonoSlide** Mononukleostest ist ein Differenzierungstest zum serologischen Schnellaufweis von heterophilen Antikörpern der IgM-Klasse, die mit infektiöser Mononukleose (IM) assoziiert werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Anwendung der Hämagglutination von Schaferythrozyten als eine Methode zum Nachweis von IM-assoziierten heterophilen Antikörpern der IgM-Klasse wurde erstmals von Paul und Bunnell¹ vorgeschlagen. Davidsohn^{2,3} entdeckte, daß andere Antikörper (z.B. Forssman-Antikörper), die gelegentlich in Serum zu finden sind und Hämagglutination herbeiführen, durch Nierenantigen vom Meerschweinchen absorbiert werden, während die IM-Antikörper reaktiv bleiben. Beer⁴⁻⁶ und andere Wissenschaftler wiesen nach, daß die Erythrozyten von anderen Spezies, insbesondere vom Pferd, ähnlich wie Schaferythrozyten reagieren, jedoch empfindlicher sind.

Heterophile IM-Antikörper sind als Anzeichen für eine Infektion u.U. bereits am 4. Tag, in fast allen Fällen jedoch spätestens am 21. Tag der Erkrankung vorhanden und persistieren bis zu mehreren Monaten. Für infektiöse Mononukleose wurde eine Assoziation mit dem Epstein-Barr-Virus berichtet. Bisher wurden heterophile Antikörper bei Hepatitis, Röteln, Leukämie,¹⁰ rheumatoider Arthritis und Burkitt-Lymphom¹¹ und anderen Krankheiten nachgewiesen.^{12,13} Da alle bekannten Testmethoden falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse liefern können,¹⁴ müssen die Ergebnisse unter Berücksichtigung klinischer und hämatologischer Befunde interpretiert werden.

VERFAHRENSPRINZIP

Dieser Test verwendet eine Testkarte zum Einmalgebrauch, Nierenantigen vom Meerschweinchen zur Absorption und speziell für höhere Spezifität, Sensitivität und zur besseren Sichtbarmachung behandelte (mit Farbstoff beladene) Pferdeerythrozyten. Der **BBL MonoSlide** Test kann ohne spezielle Geräte abgelesen werden.

REAGENZIEN

Reagenz A, BBL MonoSlide Nierenantigen vom Meerschweinchen, mit 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).

Reagenz B, BBL MonoSlide Konservierte Pferdeerythrozyten, mit 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).

Kontrolle +, BBL MonoSlide Positive Kontrolle, Humanserum, mit 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).

Kontrolle -, BBL MonoSlide Negative Kontrolle, Humanserum, mit 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).

Sicherheitshinweise: *In-Vitro*-Diagnostik

Dieses Produkt enthält trockenen Naturkautschuk.

Reagenzien: Verfallsdatum beachten. Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur erwärmen. AUSSCHLIESSLICH Reagenzien derselben Chargen-Nr. verwenden.

Kontrollseren: Kit nicht verwenden, wenn positive und negative Kontrollen falsche Ergebnisse liefern.

Die Kontrollseren werden aus Humanblut gewonnen, das zuvor mit einer von der FDA (U.S. Food and Drug Administration) genehmigten Methode zum Nachweis des HIV-Antikörpers (human immunodeficiency virus) sowie von HBsAg (hepatitis B surface antigen) getestet und als nicht reaktiv befunden wurde.

ACHTUNG: Da keine Testmethode mit vollkommener Sicherheit dafür garantieren kann, daß kein HIV, Hepatitis-B-Virus oder andere Infektionserreger vorhanden sind, SOLLTEN UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND REAGENZIEN WIE POTENTIELLE INFEKTIONSERREGER GEHANDHABT WERDEN. Die U.S. FDA empfiehlt, solche Materialien gemäß Biosicherheitsstufe 2 zu handhaben. Auf die Biosicherheitsstufe 2 wird im Handbuch der U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH), *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, Bezug genommen.

Die Reagenzien enthalten Natriumazid, das mit Blei- und Kupferrohren reagieren und dabei hochexplosive Metallazide bilden kann. Zur Vermeidung der Azidbildung bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen.

Testkarten: Zur Erzielung eines korrekten Testergebnisses ist darauf zu achten, daß die Testkarte nicht gebogen ist. Karte, falls erforderlich, vorsichtig entgegen der Wölbung gerade biegen. Testfelder nicht berühren, da eventuelle Fettsuren zu falschen Ergebnissen führen können. Testkarte nur einmal verwenden und dann verwerfen. Karten in der Originalpackung an einem trockenen Ort bei Raumtemperatur aufbewahren.

Pipetten und Tropfeinsätze: Zur Abgabe freifallender Tropfen (Reagenzien oder Probenmaterial) senkrecht halten, da die Präzision des Tests durch ungenaues Volumen beeinträchtigt werden kann. Vor dem Dispensieren von Reagenzien den Durchgang der Tropfpipette durch Kompression des Gummiballs freimachen.

Aufbewahrung der Reagenzien: Bei 2 bis 8 °C kühl aufbewahren. NICHT EINFRIEREN. Aufbewahrung bei Raumtemperatur über mehrere Tage kann die Haltbarkeit der Reagenzien beeinträchtigen. Deshalb Reagenzfläschchen nach Gebrauch wieder verschließen und im Kühlschrank aufbewahren.

* Bei Verwendung von Serum oder Plasma

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Serum/Plasma: Für den **MonoSlide** Mononukleosetest kann Serum oder Plasma verwendet werden, sofern das Vollblut mittels einer anerkannten medizinischen Technik entnommen wurde. Die Verwendung von stark hämolysierten Seren ist zu vermeiden. Das Serum sollte klar und bakterienfrei sein.

Probenmaterial kann bei 2 bis 8 °C 24 Stunden lang aufbewahrt werden. Falls eine längere Aufbewahrung erforderlich ist, sollte das Probenmaterial eingefroren werden (bei -20 °C). Hitzeinaktivierung des Serums vor der Verwendung ist nicht erforderlich. Plasma, das EDTA oder ACD-Lösung als Antikoagulans enthält, kann verwendet werden.

Eine spezielle Behandlung des Patienten vor der Probenentnahme ist nicht erforderlich.

VERFAHREN

Vor der Durchführung des Tests die Abschnitte "Sicherheitshinweise" sowie "Probenentnahme und Vorbereitung" gut durchlesen. Die Testfläche, alle Reagenzien, das gesamte Untersuchungsmaterial sowie die Verbrauchsmaterialien sollten bei Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

Best.-Nr. 240901
(60 Tests)

Reagenz A,	BBL MonoSlide Nierenantigen vom Meerschweinchen	3,0 mL
Reagenz B,	BBL MonoSlide Konservierte Pferdeerythrozyten	3,0 mL
Kontrolle +,	BBL MonoSlide Positive Kontrolle (Humanserum)	1,0 mL
Kontrolle -,	BBL MonoSlide Negative Kontrolle (Humanserum)	1,0 mL
Testkarten		20
Einwegmaterialien und Testzubehör.		

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Stoppuhr, Teströhrchen (13 x 75 mm), 0,85%ige Natriumchloridlösung, Transferpipetten zur Zubereitung von Verdünnungen.

Ferner werden die zur Vorbereitung, Lagerung und Verarbeitung der Blutproben verwendeten Geräte und Laborutensilien benötigt.

Qualitativer Test: (Serum und Plasma):

Die Verschlusskappen von **Reagenzien A** und **B** entfernen und gegen die mitgelieferten Tropfeinsätze austauschen. Die Anzahl der benötigten Testkreise (ein Testkreis pro Patient oder Kontrollansatz) festlegen. Nicht benötigte Testkreise können entlang der Perforation auf der Testkarte abgetrennt und für spätere Tests aufbewahrt werden.

Pipetten – Probenmaterial in gewohnter Weise mit der Pipette aufnehmen. Pipette aufrecht halten und freifallende Tropfen in den Testkreis abgeben. Für jede Probe eine neue Tropfpipette verwenden. Bei der Handhabung die Spitzen der Pipetten nicht berühren.

- Reagenz A** vorsichtig schütteln, um das Antigen zu resuspendieren. Einen Tropfen in die linke Seite des Testkreises auf der Testkarte geben.
- Reagenz B** durch mehrmaliges vorsichtiges Kippen des Fläschchens gut mischen. Einen Tropfen in die rechte Seite des Testkreises geben.

FPO

- Mit einer Pipette einen Tropfen Patientenserum oder -plasma zu **Reagenz A** in die linke Seite des Testkreises geben.

FPO

- Die Pipette umdrehen und mit dem flachen Ende **Reagenz A** (klare Flüssigkeit) durch 10- bis 15maliges Umrühren gründlich mit der Probe (Patientenprobe oder Kontrolle) mischen. Diese Lösung allmählich mit **Reagenz B** (rotbraune Flüssigkeit) auf dem gesamten Testkreis vermischen.

FPO

- Die Karte mit der Hand **LANGSAM** und **VORSICHTIG** eine Minute lang hin- und herschaukeln (etwa 13 bis 16 Mal pro Minute).

FPO

- UNMITTELBAR** danach die Ergebnisse makroskopisch ablesen. Zur Interpretation der Testergebnisse ist keine direkte Lichtquelle erforderlich.

Quantitativer Test (Serum und Plasma):**Titrieren –**

1. Von dem zu untersuchenden Serum oder Plasma mit 0,85 % Natriumchlorid eine Verdünnungsreihe herstellen. Bei einer Verdünnung von 1:2 beginnen und weiter 1:4, 1:8, 1:16, etc. verdünnen.
2. Die verdünnten Proben wie unter "Qualitativer Test" beschrieben testen.

Ablese der Ergebnisse (Serum/Plasma) –

1. Bei einer positiven Reaktion entstehen gleichmäßig im Testkreis verteilte dunkle Klumpen auf einem blaugrünen Hintergrund (s. Abb. 1).

Abb. 1



2. Bei einer negativen Reaktion findet keine Agglutination statt, es können jedoch feine Granula auf einem braun-beigen Hintergrund erkennbar sein. Periphere Farbentwicklung in Verbindung mit der Bildung feiner Granula ist als negative Reaktion zu werten; z.B. ist ein schwacher blaugrüner Rand an der Peripherie des Testkreises nicht als positive Reaktion abzulesen (s. Abb. 2).

Abb. 2



Quantitativer Test: Die höchste Verdünnungsstufe, bei der eine Agglutination stattfindet, ergibt den Titer.

Die Empfindlichkeit des **MonoSlide** Mononukleosetests bei einem positiven Testergebnis entspricht etwa einem im Test nach Davidsohn mit Meerschweinchennieren-Antigen adsorbierten Schafzellen erzielten Titer zwischen 1:28 und 1:56. Daher kann ein quantitatives Ergebnis nach Multiplizieren des Reziprokwerts der höchsten Verdünnungsstufe, bei der eine Agglutination stattfindet (Endtiter), mit der Zahl 28 abgeschätzt werden. Obwohl kein Zusammenhang zwischen der Schwere der Erkrankung und dem heterophilen Titer⁷ gefunden wurde, könnte es für den Kliniker interessant sein, im Verlauf der Krankheit darauf zu achten.

Qualitätskontrolle: Nach Erhalt des Testkits sollten die Reagenzien mit den **MonoSlide Kontrollseren + und –** überprüft werden. Dies wird aus zwei Gründen empfohlen: 1) Um die Leistungsfähigkeit des Kits sicherzustellen und 2) um mit der Interpretation positiver und negativer Ergebnisse vertraut zu werden. Kontrolltests mit positiven und negativen Kontrollseren sind gemäß den Anleitungen unter "Verfahren, Qualitativer Test" durchzuführen. Unter Schritt 3 ist dabei anstelle von Patientenserum jeweils ein Tropfen von jedem Kontrollserum in den Testkreis zu geben.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Eine Diagnose für infektiöse Mononukleose sollte unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborergebnisse gestellt werden.

Einige Bevölkerungsgruppen entwickeln keine nachweisbaren heterophilen Antikörper, z.B. etwa 50 % der Kinder unter 4 Jahren und 10 % der Heranwachsenden.^{15,16}

Bei manchen Patienten können nachweisbare Spiegel heterophiler Antikörper monatelang und seltener jahrelang persistieren.^{16,17}

LEISTUNGSMERKMALE

Einhundertvierunddreißig Serumproben wurden mit dem **BBL MonoSlide** Test und mit einem führenden Latexagglutinationstest auf heterophile Antikörper untersucht. Beide Tests ergaben identische Ergebnisse für neunundneunzig positive und dreißig negative Seren. Die übrigen fünf Seren waren negativ nach dem **BBL MonoSlide** Test und positiv nach dem Latextest. Diese Seren waren bei weiteren Tests mit Hilfe des Differentialröhrchenverfahrens nach Davidsohn alle negativ.¹⁸

LIEFERBARE PRODUKTE**Best.-Nr. Beschreibung**

240901 **BBL MonoSlide** Test, Kit mit 30 Bestimmungen, qualitativ/quantitativ.

Für detaillierte Informationen zu Bestellnummern, besuchen Sie unsere Web-Site <http://www.bd.com/microbiology> oder setzen Sie sich mit Ihrem lokalen Becton Dickinson Microbiology Systems-Vertreter in Verbindung.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

**BECTON
DICKINSON**

Hergestellt für:
Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

88-0922-1
Rivisto: 11-99

ITALIANO

Test BBL MonoSlide

Test differenziale su vetrino in un minuto e a facilitazione di colore*
per la mononucleosi infettiva, su siero o plasma.

USO PREVISTO

Il test **BBL MonoSlide** Mononucleosi è un test rapido e differenziale per la determinazione sierologica degli anticorpi eterofili di classe IgM associati alla mononucleosi infettiva.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Paul e Bunnell¹ furono i primi a suggerire l'uso di emoaagglutinazione degli eritrociti di pecora per evidenziare gli anticorpi eterofili associati alla mononucleosi infettiva. Davidsohn^{2,3} dimostrò che un antigene estratto dal rene di cavia adsorbiva altri anticorpi, ad es. quelli tipo Forssman che a volte compaiono nel siero e causano emoaagglutinazione, mentre l'anticorpo della mononucleosi restava attivo. Beer⁴⁻⁶ e altri dimostrarono poi che eritrociti di specie diverse dalla pecora, e in particolare gli eritrociti di cavallo, reagiscono analogamente a quelli di pecora ma con maggiore sensibilità.

In caso di positività per la malattia, gli anticorpi eterofili della mononucleosi infettiva possono essere dimostrati talvolta già dal quarto giorno, praticamente sempre entro il ventunesimo e persistono poi per parecchi mesi. La mononucleosi infettiva è stata messa in relazione con il virus di Epstein-Barr,^{8,9} e una positività per gli anticorpi eterofili è stata referata in corso di affezioni quali epatite, rosolia, leucemia,¹⁰ artrite reumatoide, linfoma di Burkitt,¹¹ e altre.^{12,13} Poiché tutti i test¹⁴ noti danno adito a falsi positivi quanto a falsi negativi, i risultati vanno sempre correlati con le risultanze cliniche ed ematologiche.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Questo test impiega un cartoncino monouso, antigene di rene di cavia per l'assorbimento, ed eritrociti di cavallo (trattati per aumentarne il colore) per migliorare sensibilità e specificità nonché facilitare la lettura. La lettura dei cartoncini del test **BBL MonoSlide** Mononucleosi non richiede particolari strumentazioni.

REAGENTI

Reagente A, antigene di rene di cavia **BBL MonoSlide**, con 0,1% di sodio azide (conservante).

Reagente B, eritrociti di cavallo stabilizzati **BBL MonoSlide**, con 0,1% di sodio azide (conservante).

Controllo +, controllo positivo **BBL MonoSlide**, siero umano, con 0,1% di sodio azide (conservante).

Controllo -, controllo negativo **BBL MonoSlide**, siero umano, con 0,1% di sodio azide (conservante).

Precauzioni: Diagnostica *in vitro*

Questo prodotto contiene gomma naturale allo stato secco.

Reagenti: Non usare oltre la data di scadenza. Dopo averli tolti dal frigorifero, portare i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso. NON mescolare reagenti appartenenti a kit con diversi numeri di lotto.

Controlli: Non usare il kit se i controlli positivo e negativo non danno risultati appropriati.

I controlli sierici sono preparati da sangue umano risultato non reattivo con una metodica approvata dalla FDA (U.S. Food and Drug Administration) per la determinazione degli anticorpi anti HIV (virus dell'immunodeficienza acquisita) e dell'HBsAg (antigene di superficie dell'epatite B).

ATTENZIONE: Poiché non esiste alcun test che possa garantire con certezza l'assoluta assenza del virus per l'epatite B, dell'HIV o di altri agenti infettivi, I CAMPIONI ED I REAGENTI DEVONO ESSERE MANIPOLATI COME SE FOSSERO COMUNQUE IN GRADO DI TRASMETTERE MALATTIE INFETTIVE. L'U.S. FDA raccomanda che tale materiale venga manipolato in conformità con quanto previsto per il Livello di Sicurezza Biologica 2. Le norme in merito a tale Livello di Sicurezza Biologica 2 sono fornite dal manuale *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, diffuso dagli U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH).

I reagenti contengono sodio azide che può reagire con le tubature di piombo e di rame, producendo degli azidi metallici altamente esplosivi. All'eliminazione, far scorrere abbondantemente acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Cartoncini per il dosaggio: I cartoncini devono essere piatti per poter dare reazioni corrette. Se necessario, si devono appiattare, ripiegandoli nel senso opposto a quello della piega. Evitare di lasciare l'impronta delle dita sulle aree di dosaggio del cartoncino poiché i depositi oleosi possono causare risultati scorretti nel test. Ogni cartoncino deve essere usato una sola volta. Conservare i cartoncini nell'imballaggio originale in luogo asciutto a temperatura ambiente.

Pipette e contagocce: Vanno retti verticalmente quando si usano per far cadere dall'alto gocce di campione e reagenti, altrimenti l'accuratezza del test può essere compromessa dall'imprecisione nella dispensazione volumetrica. Prima di dispensare i reagenti, eliminare le bolle dalla cannula del contagocce spremendo la tettarella.

Conservazione dei reagenti: Conservare dai 2 agli 8° C. NON CONGELARE. Restando troppo a lungo e ogni giorno a temperatura ambiente, i reagenti possono deteriorarsi; I reagenti devono essere rimessi in frigorifero tappati quando non vengono utilizzati.

* Se usato su campioni di siero o plasma

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Siero/plasma: Con il test **BBL MonoSlide** Mononucleosi si possono usare sia siero che plasma, purché il sangue intero sia stato raccolto con una metodologia corretta. Evitare sieri grossolanamente emolizzati; accertarsi che il siero sia limpido e privo di contaminazione batterica.

I campioni possono essere conservati 24 ore a 2 - 8° C; per periodi superiori congelarli a -20° C. La scomplementazione non è necessaria. Come anticoagulanti, EDTA o ACD (Destrosio/Ac. Citrico) sono risultati idonei.

Per il prelievo dei campioni non è necessaria alcuna preparazione del paziente.

PROCEDURE

Consultare i paragrafi "Precauzioni" e "Raccolta e preparazione dei campioni" prima d'iniziare l'esecuzione del test. Prima dell'uso condizionare a temperatura ambiente i cartoncini, i reagenti, i campioni da dosare e tutti i componenti da utilizzare nel dosaggio.

Materiali forniti:	N° 240901 (60 test)
Reagente A, antigene di rene di cavia MonoSlide	3,0 mL
Reagente B, eritrociti di cavallo stabilizzati MonoSlide	3,0 mL
Controllo +, controllo positivo MonoSlide (siero umano)	1,0 mL
Controllo -, controllo negativo MonoSlide (siero umano)	1,0 mL
Cartoncini per il dosaggio, accessori e materiali monouso per test.	20

Materiali non forniti: Timer, provette (13 x 75 mm), soluzione salina allo 0,85%, pipette per diluizioni.

Si devono anche avere a disposizione le attrezzature di laboratorio necessarie per la preparazione, la conservazione e la manipolazione dei campioni sierologici.

Test qualitativo: (Siero e plasma):

Svitare i tappi dei **Reagenti A e B** e sostituirli con i contagocce forniti. Prevedere il numero di cerchietti necessari al test (uno per ogni paziente/controllo): il cartoncino può essere tagliato a livello della fustellatura e i cerchietti eccedenti accantonati per usi futuri.

Pipette - Premere il bulbo della pipetta, pescarla nel campione e aspirare rilasciando il bulbo. Dispensare le gocce mediante una delicata pressione del bulbo tenendo verticalmente la pipetta sul cartoncino per farle cadere dall'alto. Cambiare pipetta a ogni campione e non toccare le punte delle pipette.

1. Agitare gentilmente il **Reagente A** per risospendere l'antigene. Dispensare una goccia sul lato sinistro del cerchietto sul cartoncino.
2. Mescolare accuratamente il **Reagente B** mediante inversioni ripetute. Dispensare una goccia sul lato destro del cerchietto.
3. Usando una pipetta, aggiungere una goccia di siero o plasma alla goccia di **Reagente A** sul lato sinistro del cerchietto.
4. Capovolgere la pipetta e usandola dal lato spatolina mescolare **COMPLETAMENTE** (10 o 15 movimenti circolari) dapprima il **Reagente A** (liquido trasparente) col campione (paziente o controllo) e poi gradualmente tale soluzione col **Reagente B** (marrone-rossastro) fino a coprire l'intera area del cerchietto.
5. Far oscillare la scheda a mano **LENTAMENTE** e **DOLCEMENTE** per circa un minuto (circa 13 - 16 oscillazioni al minuto).
6. Leggere **IMMEDIATAMENTE** i risultati a occhio nudo. Per una lettura veloce non è necessaria l'illuminazione diretta.

FPO

FPO

FPO

FPO

Test qualitativo (Siero e plasma):**Titolazione -**

1. Usando cloruro di sodio allo 0,85%, effettuare diluizioni seriali del siero o plasma in esame partendo da 1:2 e proseguendo con 1:4, 1:8, 1:16 ecc.
2. Testare i campioni diluiti seguendo la procedura illustrata alla voce "Test qualitativo".

Lettura dei risultati (Siero/Plasma) -

1. Una reazione positiva per mononucleosi infettiva mostra aggregati scuri su sfondo verde azzurro, distribuiti uniformemente in tutto il cerchietto (vedere Figura 1).

Figura 1**Figura 2**

2. Una reazione negativa è priva di agglutinazione, ma potrebbe presentare una fine granularità su uno sfondo marrone/marrone chiaro. L'inizio di comparsa di colore in periferia associata con una lieve granularità va interpretato come negativo; un debole alone verde azzurro alla periferia del cerchietto non va interpretato come positivo (vedere Figura 2).

Test qualitativo: Il titolo finale è dato dalla diluizione più alta a cui si osserva agglutinazione.

Il test **BBL MonoSlide** Mononucleosi è stato calibrato in modo tale che la sua positività approssimi la sensibilità di un test di agglutinazione condotto sec. Davidsohn con eritrociti di pecora adsorbiti con rene di cavia a un titolo fra 1:28 e 1:56. Possono così ottenersi dei risultati quantitativi approssimati, moltiplicando il reciproco della diluizione più alta a cui si osserva agglutinazione (titolo finale) per il fattore 28. Anche se non c'è correlazione fra gravità della malattia e titolo eterofilo,⁷ questo potrebbe risultare di interesse al clinico per monitorare il decorso dell'affezione.

Controllo di qualità: Quando vengono consegnati i kit è opportuno verificare i reagenti mediante i **Controlli + e - MonoSlide** acclusi. Questo risulta opportuno per due ordini di motivi, 1) verificare che il kit si comporti correttamente e 2) familiarizzare l'utente con l'interpretazione di risultati positivi e negativi. Per verificare i sieri di controllo seguire le istruzioni di cui al "Procedura, Test qualitativo"; al punto 3, aggiungere su cerchietti separati una goccia di ciascun siero di controllo al posto del siero del paziente.

LIMITAZIONI DELLE PROCEDURE

La diagnosi di mononucleosi infettiva va posta sulla scorta di tutte le risultanze cliniche e laboratoristiche.

Alcuni segmenti della popolazione non producono anticorpi eterofili dosabili: questo vale per circa il 50% dei bambini sotto ai 4 anni e per circa il 10% degli adolescenti.^{15,16}

In alcuni soggetti livelli dosabili di anticorpi eterofili possono persistere per mesi, o più raramente anni.^{16,17}

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Sono stati esaminati per la determinazione di anticorpi eterofili centotrentaquattro campioni di siero sia mediante il test **BBL MonoSlide** che mediante uno dei test al lattice più comunemente usato. Entrambi i test hanno dato gli stessi risultati per novantanove sieri positivi e trenta sieri negativi. I cinque sieri rimanenti sono risultati negativi con il test **BBL MonoSlide** e positivi con il test al lattice. Questi sieri sono risultati tutti negativi quando analizzati mediante il metodo differenziale Davidsohn in provetta.¹⁸

DISPONIBILITÀ**N° di cat. Descrizione**

240901 Test **BBL MonoSlide** Mononucleosi, kit da 30 test, qualitativo/quantitativo.

Per informazioni riguardo a numeri di catalogo specifici, visitare il nostro sito <http://www.bd.com/microbiology>, o contattare la sede Becton Dickinson Microbiology Systems più vicina.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

**BECTON
DICKINSON**

Prodotto per:
Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

88-0922-1
Revisado: 11-99

ESPAÑOL

Prueba BBL MonoSlide

Prueba diferencial en portaobjeto de un minuto con intensificación de color*
para mononucleosis infecciosa, utilizando suero o plasma.

USO PREVISTO

La prueba para mononucleosis **BBL MonoSlide** es una prueba rápida y diferencial para la detección serológica de anticuerpos heterófilos de clase IgM asociados con la mononucleosis infecciosa.

RESUMEN Y EXPLICACION

Paul y Bunnell¹ fueron los primeros en sugerir el uso de hemaglutinación de eritrocitos de oveja como método para detectar anticuerpos heterófilos asociados con la mononucleosis infecciosa. Davidsohn^{2,3} descubrió que otros anticuerpos como el Forssman, que aparecían ocasionalmente en los sueros y causaban hemaglutinación, eran absorbidos completamente con antígenos de riñón de cobayo, mientras que el anticuerpo de la mononucleosis infecciosa permanecía reactivo. Beer⁴⁻⁶ y otros han demostrado que las especies de eritrocitos distintos a los de oveja, particularmente los eritrocitos de caballo, reaccionan de manera similar a los eritrocitos de oveja pero con mayor sensibilidad.

Los anticuerpos heterófilos de la mononucleosis infecciosa pueden estar presentes tan pronto como al cuarto día para indicar un diagnóstico positivo, y prácticamente siempre al vigésimo primer día de la enfermedad y siguen presentes incluso durante varios meses. Se ha demostrado que la mononucleosis infecciosa está asociada con el virus Epstein-Barr.^{8,9} Se han dado a conocer pruebas heterófilas positivas en casos de hepatitis, rubéola, leucemia,¹⁰ artritis reumatoide, linfoma de Burkitt¹¹ y otras condiciones patológicas.^{12,13} Debido a que los resultados positivo falso y negativo falso ocurren con todas las pruebas conocidas,¹⁴ los resultados deben ser correlativos con los resultados clínicos y hematológicos.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Esta prueba utiliza una tarjeta desechable, antígeno de riñón de cobayo para la absorción y eritrocitos de caballo especialmente tratados (con intensificación de color) para aumentar la especificidad, sensibilidad y mejorar la legibilidad. No se requiere ningún equipo especial para leer la prueba de mononucleosis **BBL MonoSlide**.

REACTIVOS

Reactivo A, BBL MonoSlide antígeno de riñón de cobayo, con 0,1% de azida sódica (conservante).

Reactivo B, BBL MonoSlide eritrocitos de caballo preservados, con 0,1% de azida sódica (conservante).

Control +, BBL MonoSlide control positivo, suero humano, con 0,1% de azida sódica (conservante).

Control -, BBL MonoSlide control negativo, suero humano, con 0,1% de azida sódica (conservante).

Precauciones: Diagnóstico *in vitro*

Este producto contiene goma natural seca.

Reactivos: No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad. Después de sacarlos del refrigerador, deje que alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos. NO MEZCLE los reactivos de equipos que tengan números de lote diferentes.

Controles: No use el kit si los controles positivo y negativo no producen los resultados apropiados.

Los sueros de control se derivan de sangre humana que se analizó y resultó ser no reactiva según un método aprobado por la FDA (U.S. Food and Drug Administration) para detectar la presencia de anticuerpos al HIV (virus de inmunodeficiencia humana) y al HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B).

ADVERTENCIA: Debido a que ningún método de análisis puede ofrecer una garantía total de la ausencia del HIV, del virus de la hepatitis B, o de otros agentes infecciosos, LAS MUESTRAS Y ESTOS REACTIVOS DEBEN MANIPULARSE COMO SI FUERAN CAPACES DE TRANSMITIR UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA. La U.S. FDA recomienda que dicho material sea manipulado a un nivel 2 de bioseguridad, al que se hace referencia en el manual de *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, de los U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (CDC/NIH).

Los reactivos contienen azida sódica, que puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y producir azidas metálicas altamente explosivas. Al eliminar los reactivos, use bastante agua para evitar la acumulación de azida.

Tarjetas de análisis: Para permitir una reacción correcta, las tarjetas deben ser planas. En caso contrario, aplane la tarjeta curvándola hacia atrás en sentido opuesto al lado ondulado. Tenga cuidado de no tocar con los dedos las zonas de análisis, pues existe el peligro de dejar restos grasos que podrían alterar los resultados del mismo. Utilice cada tarjeta una sola vez y deséchela. Guarde las tarjetas en el envase original en un lugar seco y a temperatura ambiente.

Pipetas y montaje de gotero: Sostenga las pipetas y goteros en forma vertical al dispensar libremente gotas de reactivo y de muestra; de otro modo, se puede comprometer la precisión de la prueba debido al suministro impreciso de volumen. Antes de dejar caer gotas de reactivo, limpie el conducto del gotero apretando la pera del gotero.

Almacenamiento de los reactivos: Refrigérelos a una temperatura de entre 2 y 8° C. NO CONGELAR. El almacenamiento prolongado por varios días a temperatura ambiente puede afectar la estabilidad del reactivo, por lo tanto, tape los reactivos nuevamente y colóquelos en el refrigerador cuando no los use.

* Cuando se utilice en muestras de suero o plasma

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Suero/Plasma: El suero o plasma se puede utilizar con la prueba de mononucleosis **MonoSlide**, siempre que toda la sangre se recoja con una técnica médica aceptable. Evite el uso de sueros hemolisados densos. El suero debe ser transparente y libre de contaminación bacteriana.

Las muestras se pueden almacenar entre 2 y 8° C durante 24 horas. En caso de almacenamiento prolongado, las muestras deben congelarse (-20° C). No es necesario inactivar los sueros con calor antes de usarlos. Se puede utilizar plasma con EDTA o Dextrosa de Citrato Acido (ACD) como anticoagulante.

No se requiere ninguna preparación del paciente antes de la toma de la muestra.

PROCEDIMIENTOS

Vuelva a leer "Precauciones" y "Recogida y preparación de las muestras" antes de efectuar las pruebas. La zona en que se van a realizar las pruebas, los reactivos, las muestras y los componentes de la prueba deben encontrarse a temperatura ambiente en el momento de usarse.

Materiales suministrados:	N° 240901 (60 Pruebas)
Reactivo A, MonoSlide antígeno de riñón de cobayo	3,0 mL
Reactivo B, MonoSlide eritrocitos de caballo preservados	3,0 mL
Control +, MonoSlide control positivo (suero humano)	1,0 mL
Control -, MonoSlide control negativo (suero humano)	1,0 mL
Tarjetas de análisis, material desechable y accesorios para la prueba.	20

Materiales no suministrados: Reloj, tubos de ensayo (13 x 75 mm), solución de cloruro de sodio al 0,85%, pipetas de traspaso para diluciones.

También se necesitan los aparatos de laboratorio apropiados para la preparación, el almacenamiento y la manipulación de muestras serológicas.

Análisis cualitativo: (suero y plasma):

Remueva las tapas de los **Reactivos A y B** y reemplácelos con los montajes de gotero proporcionados. Determine el número de círculos de análisis requeridos (un círculo por cada muestra de paciente o control a probar). La tarjeta de prueba se puede separar en la línea de perforación para remover y guardar círculos de análisis adicionales para pruebas futuras.

Pipetas – Para su utilización, apriete la pera de la pipeta e inserte la pipeta en la muestra. Elimine la presión antes de extraer la muestra. Deje caer gotas libremente apretando suavemente la pipeta mientras la sujeta verticalmente sobre la tarjeta de análisis. Utilice una pipeta diferente para cada muestra. Cuando trabaje con pipetas evite tocar la punta.

1. Agite el **Reactivo A** suavemente para volver a suspender el antígeno. Agregue una gota en el lado izquierdo del círculo de análisis en la tarjeta.
2. Invierta el **Reactivo B** varias veces para mezclarlo completamente. Agregue una gota en el lado derecho del círculo de análisis.
3. Con una pipeta, agregue una gota de suero o plasma del paciente al **Reactivo A** en el lado izquierdo del círculo de análisis.
4. Invierta la pipeta y utilice el extremo de la paleta para mezclar **COMPLETAMENTE** (revolver en forma circular 10 a 15 veces) el **Reactivo A** (líquido transparente) con la muestra (paciente o control). Gradualmente, mezcle esta solución con el **Reactivo B** (líquido castaño rojizo), cubriendo todo el círculo de análisis.
5. Sacuda la tarjeta con la mano **LENTA** y **CUIDADO**-



SAMENTE durante un minuto (aproximadamente 13 – 16 sacudidas por minuto).

6. Lea los resultados INMEDIATAMENTE en forma macroscópica. No es necesario leer las interpretaciones de la prueba con luz directa.

Análisis cuantitativo (suero y plasma):

Titulación –

1. Prepare diluciones en serie del suero o plasma que está siendo analizado, utilizando cloruro de sodio al 0,85%, comenzando con una dilución 1:2 y continuando con 1:4, 1:8, 1:16, etc.
2. Analice las muestras diluidas siguiendo el procedimiento explicado en la sección “Análisis cualitativo”.

Lectura de los resultados (suero/plasma) –

1. Una reacción positiva de mononucleosis infecciosa presentará masas oscuras en un fondo azul-verdoso, distribuido uniformemente en el círculo de análisis (vea la figura 1).

Figura 1



Figura 2



2. Una reacción negativa no presentará aglutinación, pero puede presentar granulosidades finas en un fondo castaño/tostado. La formación de color en la periferia asociada con granulosidades finas debe interpretarse como negativa: por ejemplo, un halo de color azul-verdoso pálido en la periferia del círculo de análisis no debe interpretarse como positivo (vea la figura 2).

Análisis cuantitativo: La dilución máxima en la que ocurre la aglutinación es el punto final.

La prueba de mononucleosis **MonoSlide** ha sido modificada para proporcionar una prueba positiva, aproximando la sensibilidad de un riñón de cobayo de una concentración absorbida Davidsohn de célula de oveja de 1:28 hasta 1:56. Por lo tanto, se puede obtener un resultado cuantitativo aproximado multiplicando el recíproco de la dilución más alta en la que ocurre la aglutinación (punto final) por 28. Si bien no se ha encontrado correlación ninguna entre la severidad de la enfermedad y la concentración heterófila,⁷ el clínico podría estar interesado en seguir el curso de la enfermedad.

Control de calidad: Los **controles + y - MonoSlide** deben utilizarse para verificar los reactivos al momento de recibir el equipo. Esto se recomienda por dos razones: 1) Para asegurar el funcionamiento adecuado del equipo, y 2) para que el usuario se familiarice con las interpretaciones de los resultados positivos y negativos del análisis. Cuando realice sueros de control positivos y negativos, siga las instrucciones descritas en las secciones “Procedimientos y Análisis Cualitativo”. En el paso 3, agregue una gota de cada control a un círculo de análisis separado en lugar de suero del paciente.

LIMITACIONES DE LOS PROCEDIMIENTOS

El diagnóstico de la mononucleosis infecciosa debe basarse en los resultados de todos los datos clínicos y de laboratorio.

Algunos segmentos de la población no producen anticuerpos heterófilos detectables, por ejemplo, aproximadamente el 50% de los niños menores de 4 años y el 10% de los adolescentes.^{15,16}

Los niveles detectables de anticuerpos heterófilos pueden persistir durante meses, y rara vez durante años, en algunos individuos.^{16,17}

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Ciento treinta y cuatro muestras de suero fueron evaluadas para la detección del anticuerpo heterófilo mediante la prueba **BBL MonoSlide** y una prueba de aglutinación de látex. Ambas pruebas proporcionaron los mismos resultados para noventa y nueve sueros positivos y treinta sueros negativos. Los cinco sueros restantes resultaron negativos mediante la prueba **BBL MonoSlide** y positivos mediante la prueba de látex. Todos estos sueros resultaron negativos mediante pruebas adicionales con el uso del procedimiento de Tubo Diferencial de Davidsohn.¹⁸

DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

240901 Prueba **BBL MonoSlide**, equipo de 30 pruebas, cualitativa/cuantitativa.

Para obtener información sobre los números de catálogo específicos, visite nuestro sitio Web <http://www.bd.com/microbiology> o comuníquese con la oficina más cercana de Becton Dickinson Microbiology Systems.

BIBLIOGRAFIA: Ver “References” en el texto en inglés.

**BECTON
DICKINSON**

Fabricado por:
Becton Dickinson France S.A.
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix, France

MADE
IN
U.S.A.