

MONONUCLEOSI LATEX

Per uso diagnostico *in Vitro***Test di agglutinazione al lattice per la ricerca di anticorpi eterofili associati alla Mononucleosi Infettiva (I.M.)**

I. DESTINAZIONE D'USO

Paul e Bunnell furono i primi a notare che il siero di un paziente con mononucleosi infettiva (IM) contiene anticorpi eterofili che danno luogo ad agglutinazione in presenza di eritrociti di pecora. Questi anticorpi eterofili reagivano con un antigene che apparentemente non era responsabile della loro produzione. Comunque, si scoprì presto che il test mancava di specificità a causa della presenza dell'anticorpo di Forssman presente nel siero di alcuni individui che apparentemente non erano affetti da mononucleosi ma che agglutinava con eritrociti non modificati di pecora o di cavallo (2). Nel 1937, Davidsohn impiegò una diversa procedura di adsorbimento che rimuoveva l'anticorpo di Forssman, pur mantenendo l'agglutinazione eterofila caratteristica dell'IM (3). La modifica di Davidsohn aumentò la specificità ma ne risultò un test lungo e scomodo da effettuare. Di conseguenza, il test di Davidsohn è stato relegato nel ruolo di un metodo di riferimento per la diagnosi di IM. Con lo scopo di trovare una valida alternativa è stata studiata una procedura di agglutinazione con eritrociti di cavallo chimicamente trattati e fissati a lattice. Questo metodo ha mostrato di essere sensibile e specifico per la determinazione serologica degli anticorpi eterofili associati alla mononucleosi infettiva (95% di positivi nel caso di IM avanzata e 80% di positivi entro la prima settimana) (2, 4, 5, 6, 16).

II. PRINCIPIO

Il kit è costituito da una sospensione di particelle di lattice di polistirene che sono state coniugate con glicoproteine parzialmente purificate provenienti da cellule rosse di sangue di bovino. Gli anticorpi eterofili associati alla mononucleosi infettiva legano i corrispondenti determinati antigenici sul lattice coniugato con le glicoproteine. Questo legame risulta evidente grazie ad una rapida agglutinazione del lattice. Grazie alla purificazione delle cellule rosse del sangue di bovino, il lattice coniugato con glicoproteine non agglutina in presenza di anticorpo di Forssman o di altri anticorpi presenti nel campione.

III. STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Indicazioni di deterioramento: mancanza di evidente agglutinazione con il controllo positivo, agglutinazione con il controllo negativo o estrema torbidità con entrambi i controlli. I reattivi presenti nel kit sono stabili fino alla data di scadenza quando conservati come indicato. In ogni caso, come la maggior parte dei reattivi, possono essere danneggiati da una manipolazione non corretta, specialmente da temperature non corrette. L'utilizzo dei controlli positivi e negativi forniti consente di determinare l'eventuale deterioramento dei reattivi. Conservare i reattivi a 2-8°C quando non sono utilizzati. Tutti gli altri componenti del kit possono essere conservati a temperatura ambiente. Non congelare i reattivi.

Scartare i controlli non utilizzati quando il reattivo al lattice viene esaurito.

IV. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Usare siero fresco o plasma libero da contaminati. Raccogliere il sangue in una provetta pulita e asciutta e lasciarlo coagulare per almeno 10 minuti prima di rimuovere il siero. Se non vengono analizzati immediatamente, i campioni possono essere conservati a 2-8°C per massimo 72 ore. Se è richiesto un tempo di conservazione maggiore, i campioni devono essere congelati ed analizzati in un momento successivo. Si consiglia di evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti.

I campioni prima di essere utilizzati devono essere chiari e liberi da particolati. Se necessario, centrifugare per chiarificare i campioni prima del loro utilizzo. Campioni inquinati o emolizzati non devono essere utilizzati.

V. REATTIVI E MATERIALI FORNITI

1. Lattice: sospensione di lattice di polistirene coniugato con glicoproteine parzialmente purificate ottenute da cellule del sangue di bovino.
2. Controllo positivo: miscela di sieri umani in grado di dare una reazione positiva con il reattivo al lattice.
3. Controllo negativo: soluzione in grado di dare una reazione negativa con il reattivo al lattice.
4. Slide.
5. Bacchettine di plastica.

Tutti i reattivi contengono sodio azide come conservante.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

1. Timer.
2. Agitatore per slide.
3. Soluzione fisiologica (0.85% o 0.9% di sodio cloruro).
4. Pipetta con puntali a perdere.
5. Provette a perdere (12x75 mm, 10x75 mm o 13x100 mm).
6. Portaprovette.

VI. ATTENZIONE

Il sodio azide può reagire con piombo e rame formando azidi metalliche altamente esplosive. Se i reattivi vengono gettati nello scarico, far scorrere molta acqua.

Materiali di origine umana. Trattare come potenzialmente infettivi. Ogni fonte utilizzata nella preparazione di questo prodotto è stata testata con un metodo approvato dalla FDA e trovata non reattiva alla presenza di HBsAg e di anticorpi anti-HIV. Poiché nessuno dei test conosciuti è in grado di garantire la completa assenza di virus dell'epatite B, del virus HIV o di altri agenti infettivi, tutti i prodotti basati su sangue umano devono essere manipolati in accordo a procedure di sicurezza.

VII. PROCEDIMENTO

A. Test Qualitativo

1. Portare i reattivi ed i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Mettere una goccia (50 µl) di controllo positivo nella prima area dello slide. Mettere una goccia (50 µl) di controllo negativo nella seconda area dello slide. Le rimanenti aree vengono usate per i campioni. Usando una pipetta, mettere una goccia del campione in un'area libera dello slide.
3. Rispondere agitando delicatamente il lattice e mettere una goccia in ogni area dello slide. Con una bacchettina di plastica distribuire la miscela di reazione sull'intera area.
4. Ruotare lo slide per 3 minuti e leggere immediatamente sotto luce diretta.

B. Test Semiquantitativo

1. Portare i reattivi ed i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Usando soluzione fisiologica, diluire i campioni 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 o quanto necessario.
3. Mettere una goccia (50 µl) di ogni diluizione in aree successive dello slide.
4. Rispondere delicatamente il lattice e aggiungere una goccia ad ogni area dello slide. Con una bacchettina di plastica distribuire la miscela di reazione sull'intera area.



5. Ruotare lo slide per 3 minuti e leggere immediatamente sotto luce diretta.

VIII. CONTROLLO QUALITA'

I controlli positivi e negativi devono essere inseriti in ogni serie di analisi. Il controllo positivo deve dare luogo ad una agglutinazione evidente; il controllo negativo non deve dare luogo ad agglutinazione.

IX. RISULTATI

A. Test Qualitativo

L'agglutinazione (reazione positiva) indica la presenza di anticorpi eterofili associati alla mononucleosi infettiva. L'assenza di agglutinazione (reazione negativa) indica l'assenza di agglutinine eterofile associate alla mononucleosi infettiva.

B. Test Semiquantitativo

Il titolo di anticorpi eterofili anti-IM è il reciproco della diluizione più alta che mostra una reazione positiva. Il titolo anticorpale non è rapportabile allo stadio o alla gravità dell'infezione (7, 8). Comunque, un aumento nel titolo di agglutinazione eterofila può essere clinicamente significativa nei primi stadi della malattia e può essere utile nella diagnosi dell'IM.

X. LIMITI DELLA PROCEDURA

Sebbene il kit sia altamente sensibile e specifico, la diagnosi della mononucleosi infettiva non può essere fatta sulla base del risultato positivo del test senza il supporto dell'anamnesi del paziente ed altre evidenze ematologiche e cliniche. Similmente, un risultato negativo non esclude completamente la possibilità di mononucleosi infettiva. L'incubazione del test per un tempo superiore a quello indicato o una contaminazione microbica possono dare luogo a reazioni false positive.

Apparenti reazioni false positive sono state associate a sieri di pazienti con affezioni diverse come infezioni, leucemia, linfoma di Burkitt (9, 10, 11, 12, 13).

Sebbene molti pazienti sviluppino anticorpi eterofili entro 3 settimane dalla comparsa dei sintomi, alcuni pazienti necessitano di diversi mesi prima di sviluppare livelli rilevabili di anticorpi. Se il test risulta negativo in presenza di forti evidenze che suggeriscono una diagnosi di mononucleosi infettiva, ripetere l'analisi su campioni prelevati a intervalli di alcuni giorni in modo da rivelare l'incremento delle agglutinine eterofile. Alcuni pazienti con evidenze ematologiche e cliniche di mononucleosi infettiva rimangono persistentemente negativi (12, 14, 15).

Un singolo titolo di anticorpi eterofili non può essere interpretato come un'indicazione dello stadio o della gravità dell'infezione. (7, 8). Comunque, la titolazione su campioni sequenziali può essere utile per seguire il decorso dell'infezione in un singolo paziente.













XI. CARATTERISTICHE SPECIFICHE

Sono stati analizzati 285 campioni di siero e di plasma. Sono stati utilizzati il kit Mononucleosi Latex ed un kit disponibile in commercio per la valutazione dei campioni. 132 campioni sono stati trovati positivi utilizzando entrambi i prodotti. I rimanenti 153 campioni hanno dato risultato negativo con entrambi i prodotti. Questi risultati indicano che sia la sensibilità sia la specificità di Mononucleosi Latex sono del 100%.

In uno studio di precisione, un pannello di 10 campioni di siero con un titolo di anticorpi eterofili anti-IM da 1 a 256 sono stati testati per 10 giorni consecutivi utilizzando il metodo semiquantitativo (100 determinazioni). Nessuna determinazione ha dato una differenza superiore a 2 diluizioni rispetto al titolo medio del campione.

XII. BIBLIOGRAFIA

- Paul, J.R. and W.W. Bunnell. 1932. Am. J. Med. Sci. 90:1932
- Beer, P. 1936. J. Clin. Invest. 15:591
- Davidsohn, I. 1937. J.A.M.A. 108:289
- Hoff, G. and S. Bauer. 1965. 194:351
- Wilkinson, P.C. and D.S. Carmichael. 1964. J. Lab. Clin. Med. 64:529
- Lee, C.L., I. Davidsohn and R. Slaby. 1968. Am. J. Clin. Path. 49:3
- Davidsohn, I. and C.L. Lee. 1962. Med. Clin. N. Am. 46:225
- Baehner, R.L. and S.E. Shuler. 1967. Clin. Pediat. 6:393
- Horwitz, C.A., H. Polesky, T. Stillman, P.C.J. Ward, G. Henle and W. Henle. 1973. Brit. Med. J. 1:591
- Bender, C.E. 1958. Ann. Intern. Med. 49:852
- Carpenter, G., J. Kahler and E.B. Reilly. 1950. Am. J. Med. Sci. 220:195
- Henle, G., W. Henle and V. Diehl. 1968. Proc. Natl. Acad. Sci. 59:94
- Davidsohn, I. 1929. J. Immunol. 16:259
- Penman, H.C. 1968. J. Clin. Path. 21:50
- Henle, W. and G. Henle. 1973. New Engl. J. Med. 288:263
- Andiman, W.A. 1985. Antibody Responses to Epstein-Barr Virus. in Rose, N.R., H. Friedman and J.L. Fahey (ed.) Manual of Clinical Immunology. Third edition. Amer. Soc. Microbiol. Washington, DC

 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura	 LOT	Codice del lotto (EXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

CONFEZIONE

	UB80710 62 test	UB80720 250 test	UD80700 Controlli
Lattice (tappo bianco)	1 x 2.5 mL	4 x 2.5 mL	
Controllo Positivo (tappo rosso)	1 x 0.5 mL	1 x 0.5 mL	1 x 0.5 mL
Controllo Negativo (tappo verde)	1 x 0.5 mL	1 x 0.5 mL	1 x 0.5 mL
Slide con 6 aree test	2 pz	40 pz	
Bacchette	3 pz	10 pz	
Istruzioni per l'uso	1 pezzo	1 pezzo	1 pezzo
Codice Ramo CND	W010105040402	W010105040402	W01050801

