



**biokit**

08186 Llissà d'Amunt  
Barcelona  
Spain

Tel.:+ 34 93 860 90 00  
Fax:+34 93 860 90 17  
e-mail: biokit@biokit.com  
www.biokit.com

Date: 10-10-2007

Ref: 246/MKT/RT10

**SUBJECT MONOGEN Worldwide Presentation**



Up to now, Biokit has offered its own well-known latex test on slide for mononucleosis under two different names:

- **Monogen**, for the US market, available in two different presentations, 50-test kit and 150-test kit (CODE 300021001 and 300021002) and
- **Monolatem** for the rest of the world (ROW) available in a 50-test kit presentation (CODE 3000-1001)

Taking into account that both presentations contain exactly the same reagents, we have decided to use a single name for worldwide use, which will be CE marked and FDA cleared at the same time.

The definitive name will be **Monogen** and the CODE number is maintained as up to now for the ROW version.

The definitive codes and presentations are:

CODE 3000-1001. Monogen. 50-test kit

Containing:

1 x 1.4 ml reagent

1x1 ml positive control

1x1 ml negative control

9 x 6 disposable slides

CODE 3000-1002. Monogen. 150-test kit

Containing:

3 x 1.4 ml reagent

1x2 ml positive control

1x2 ml negative control

27 x 6 disposable slides

Please find attached the new insert and the revised MDSS of this unified reagent:

## Valores previstos

Diferentes estudos (11,12) realizados em doadores de sangue, indicam que a presença de anticorpos heterófilos de MI varia de 0,9 a 1,7% da população. Dado que a presença dos citados anticorpos indica uma infecção relativamente recente, estes resultados sugerem que a incidência real da enfermidade pode ser maior que o número de casos diagnosticados.

## Características funcionais

As avaliações que compararam o **monogen** com um teste de hemaglutinação diferencial disponível no mercado foram realizadas para determinar a sensibilidade e especificidade do reativo. Selecionaram-se 106 soros positivos e 114 soros negativos para o estudo com um teste de hemaglutinação diferencial em lâmina. As discrepâncias entre os resultados obtidos pelo **monogen** e o teste de hemaglutinação resolveram-se utilizando testes sorológicos específicos do vírus de Epstein-Barr (EBV).

Nestes testes, determinaram-se os títulos de anticorpos específicos contra o antígeno de cápside do EBV (tanto IgG como IgM), o antígeno precoce do EBV (tanto difuso -D- como restringido -R-) e o antígeno nuclear do EBV. Os resultados de tais testes especificavam se a infecção pelo EBV era recente ou aguda, em quais casos se considerava que o soro era positivo, ou se havia ausência de anticorpos ou restos de uma infecção anterior, circunstância em que o soro se considerava negativo. Doze dos 100 soros positivos não discrepantes e cinco dos 106 negativos não discrepantes também foram analisados utilizando estes mesmos testes sorológicos específicos do EBV. Em todos os casos, o teste específico do EBV confirmou o caráter positivo ou negativo das amostras.

Comparado com a hemaglutinação, detectou-se que o **monogen** apresentava uma sensibilidade de 94% e uma especificidade de 93%. Se se considerar que os resultados concordantes da sorologia do EBV obtidos a partir dos soros não discrepantes são aplicáveis a todas as amostras estudadas, é possível deduzir que a sensibilidade do **monogen** relativa aos testes específicos do EBV é de 99% e sua especificidade, de 93%. Somente houve um resultado negativo com o **monogen** e positivo com a sorologia do EBV. Determinou-se que se tratava de uma infecção recente e não aguda devido à ausência do IgM anti-VCA e antígeno nuclear. Por este motivo, não se pode interpretar tal resultado negativo como um efeito prozona.

Em um estudo à parte comparou-se o **monogen** com um teste qualitativo de glóbulos vermelhos de cavalo com o total de 224 amostras de plasma EDTA. Houve plena correspondência nos resultados dos testes que incluíam 51 amostras positivas e 173 negativas. Em geral, os resultados deste estudo indicam claramente que o **monogen** apresenta alto grau de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da MI.

Estudou-se um painel de 10 amostras positivas de soro em três dias consecutivos utilizando a técnica semiquantitativa. Os resultados do estudo indicam que o **monogen** apresenta uma precisão de 100%. Espera-se que o erro de estimativas repetidas só seja de uma diluição dupla.

## Bibliografia

Ver "References" do texto inglês.

BIOKIT, S.A.  
08186 Lliçà d'Amunt  
BARCELONA - SPAIN



3800-1227  
09/07

---

## monogen

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

---

## Summary

Infectious mononucleosis (IM) is an acute infectious disease of viral etiology. The most frequent symptoms are fever, sore throat, tender lymphadenopathy, anorexia, malaise, headache and myalgia. Splenomegaly occurs in most patients. A macular, maculopapular or petechial rash occurs in up to 50% of the cases, but such rashes occur most commonly in patients who have been treated with ampicillin.

The complications of IM include secondary bacterial pharyngitis, rupture of the spleen, autoimmune hemolytic anemia, autoimmune thrombocytopenia, myocarditis, hepatitis and central nervous system involvement with meningoencephalitis or transverse myelitis. Fatal fulminant IM or acquired hypogammaglobulinemia is rarely seen.

The diagnosis made on clinical history and symptomatology alone is difficult. Numerous cases in which IM has been misidentified with other non-related viral and bacterial diseases have been cited (1). For this reason, hematologic and serologic tests are very helpful in diagnosis.

In 1932, Paul and Bunnell (2) noted that sera from patients with IM have heterophile antibodies to sheep erythrocytes. Also were described agglutinins to red blood cells from other mammals (3,4). The proteins responsible for this agglutination are glycoproteins from red cell membranes called Paul-Bunnell antigen by several authors. Studies made on these glycoproteins show that those purified from bovine red blood cells are the most sensitive to IM heterophile antibodies. Heterophile antibodies to sheep erythrocytes (which are different from those present during IM) may also be detected in sera from normal people, from individuals who have received injections of serum, and others (3,5).

Traditionally the IM heterophile antibodies have been distinguished from other heterophile antibodies by a "differential" absorption test (6,7) with bovine red blood cells and guinea pig kidney tissue. Now, the use of a purified Paul-Bunnell antigen attached to latex particles provides a simple method with improved sensitivity for the specific detection of heterophile antibodies associated with IM.

In 1968, the etiologic agent of IM was described (8). It was called the Epstein-Barr virus (EBV), a member of the herpes virus group. Subsequently, several serologic techniques involving EBV-related antigens have been developed.

The mode of transmission of IM appears to be intimate salivary contact, salivary contamination of eating and drinking vessels and airborne dissemination of EBV (9).

## Principle

The **monogen** reagent is a suspension of polystyrene latex particles of uniform size coated with highly purified Paul-Bunnell antigen from bovine red cell membranes. The degree of purity of the antigen is such that **monogen** only reacts with IM heterophile antibodies. For this reason, "differential" absorptions are not necessary.

Latex particles allow visual observation of the antigen-antibody reaction. If IM heterophile antibodies are present in the sample, the latex suspension changes its uniform appearance and a clear agglutination becomes evident.

## Reagents

- a) **Latex reagent:**  
Suspension of polystyrene latex particles coated with Paul-Bunnell antigen in a buffer. Contains < 0.1% sodium azide.
- b) **Positive control:**  
Rabbit IgG anti-Paul-Bunnell antigen diluted in a buffer. Contains < 0.1% sodium azide.
- c) **Negative control:**  
Non reactive diluted human serum. Contains < 0.1% sodium azide.

## Precautions

**monogen** is intended for IN VITRO diagnostic use.

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

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

**WARNING: POTENTIALLY BIOHAZARDOUS MATERIAL.**

Because no test method can offer complete assurance of the absence of infectious agents, the reagents should be handled carefully (10).

Dispose all used materials in a suitable biohazardous waste container.

## Storage

The reagents will remain stable through the expiration date shown on the label if stored between 2-8°C. Do not freeze. The reagents can be damaged by improper handling, especially temperature extremes.

The latex reagent, once shaken, must be uniform without visible clumping. When stored a slight sedimentation may occur and should be considered normal. Do not use reagents if they become contaminated.

The reagent dropper dispenses drops of 28 µl ± 10%. The dropper must be held perpendicular to the slide surface and a single drop allowed to fall. Do not use another dropper without previously checking the volume of the drop.

## Available packaging

- **REF** 3000-1001, kit 50 tests.  
1 x 1.4 ml reagent, 1 ml positive control, 1 ml negative control and 9 x 6 disposable slides.
- **REF** 3000-1002, kit 150 tests.  
3 x 1.4 ml reagent, 2 ml positive control, 2 ml negative control and 27 x 6 disposable slides.

## Material required not provided

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

## Sample collection

Serum:

Use fresh serum collected by centrifuging clotted blood. If the test cannot be carried out on the same day, it may be stored between 2 and 8°C for no longer than 8 days after collection. For longer periods the samples must be frozen (-20°C).

Plasma:

Collect blood into a tube containing anticoagulant (EDTA). Other anticoagulants should be evaluated before use. Centrifuge to separate plasma from cellular elements. Test the specimen within 24 hours of blood collection.

Do not use hemolyzed or contaminated samples.

## PROCEDURE

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

## PROCEDIMENTO

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

O conta-gotas deve ser colocado verticalmente e deixar cair apenas uma gota.

## TESTE QUALITATIVO

- Deixar que o reativo e os controles alcancem a temperatura ambiente (20 - 30°C).
- Agitar suavemente o frasco do reativo para dispersar e suspender as partículas de látex na solução tampão. É preciso evitar agitá-lo vigorosamente.
- Colocar 50 µl de amostra (ou uma gota de controle) em uma das seções da lâmina.
- Agitar o frasco do reativo e colocar uma gota do reativo junto à gota de amostra.
- Misturar ambas gotas com um palito, cobrindo-se toda a superfície da seção da lâmina.
- Agitar a lâmina com um suave movimento de rotação, seja manualmente ou com um agitador rotatório (80-100 rpm), durante 3 minutos.
- Observar a presença ou ausência de aglutinação.

## Interpretação dos resultados

### REAÇÕES POSITIVAS:

Presença de aglutinação. A amostra contém anticorpos heterófilos de MI.

3+ Agregados grandes sobre fundo transparente.

2+ Agregados médios sobre fundo ligeiramente opaco.

1+ Agregados finos sobre fundo opaco.

### REAÇÕES NEGATIVAS:

Ausência de agregados, suspensão uniforme.

## TESTE SEMI-QUANTITATIVO

- Colocar 50 µl de solução salina em cada uma das seções 1 a 6 da lâmina.
- Com uma pipeta automática, colocar 50 µl de amostra na seção 1 da lâmina.
- Com a mesma pipeta aspirar e expulsar várias vezes a amostra e a solução salina contidos na seção 1 até conseguir uma boa mistura.
- Tomar 50 µl da mistura obtida na seção 1 e transferir para a seção 2.
- Realizar as mesmas operações descritas anteriormente para conseguir a mistura correta dos reativos e transferir 50 µl da seção 2 para a 3 e assim sucessivamente até a 6, devendo-se desprezar 50 µl.
- Testar cada diluição tal como se descreve na seção TESTE QUALITATIVO.

## Interpretação dos resultados

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

## Limitações do procedimento

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

## Reativos

- Reativo látex:**  
Suspensão de partículas de látex de poliestireno sensibilizadas com antígeno de Paul-Bunnell. Contém azida sódica < 0,1%.
- Controle positivo:**  
IgG de coelho contra o antígeno de Paul-Bunnell diluído em um tampão. Contém azida sódica < 0,1%.
- Controle negativo:**  
Soro humano negativo, diluído. Contém azida sódica < 0,1%.

## Precauções

**monogen** é para o diagnóstico IN VITRO.

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

ATENÇÃO: MATERIAL DE RISCO BIOLÓGICO.

Dado que nenhum método pode oferecer a total segurança da ausência de agentes infecciosos, os reativos deste kit devem ser manipulados com cuidado (10).

Descartar todos os materiais usados em recipientes adequados para material bio-contaminante.

## Conservação

Os reativos permanecem estáveis até a data de validade indicada na etiqueta, se forem conservados entre 2 e 8°C. Não congelar. Os reativos podem ser danificados pelo manejo inadequado, especialmente se se submetem a temperaturas extremas.

O reativo látex, uma vez agitado, deve ser uniforme e não deve apresentar agregados visíveis. Quando armazenado pode produzir uma leveira sedimentação que se considera normal.

Não utilizar reativos que tenham sido contaminados.

O conta-gotas de reativo dispensa gotas de 28 µl ± 10%. O conta-gotas deve ser colocado perpendicularmente à superfície da lâmina e só deverá cair uma gota. Não se deve utilizar outro conta-gotas sem observar antes o tamanho da gota.

## Apresentações disponíveis

- **REF** 3000-1001, kit 50 testes.  
1 x 1,4 ml reativo, 1 ml controle positivo, 1 ml controle negativo e 9 x 6 lâminas descartáveis.
- **REF** 3000-1002, kit 150 testes.  
3 x 1,4 ml reativo, 2 ml controle positivo, 2 ml controle negativo e 27 x 6 lâminas descartáveis.

## Material necessário não incluído

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

## Coleta da amostra

Soro:

É preciso utilizar soro fresco coletado mediante centrifugação de sangue coagulado. Se o teste não puder ser levado a cabo no mesmo dia, pode ser armazenado no máximo durante 8 dias após a coleta da amostra, com temperatura de 2-8°C. Para períodos mais longos, as amostras devem ser congeladas (-20°C).

Plasma:

Colher a amostra do sangue em um tubo que contenha anticoagulante (EDTA). Outros anticoagulantes devem ser analisados antes de seu uso. Centrifugar para separar o plasma dos elementos celulares. Analisar a amostra ao longo das 24 horas seguintes à coleta do sangue.

Não utilizar amostras hemolisadas ou contaminadas.

To assure proper delivery the reagent dropper must be held vertically and a single drop allowed to fall.

## QUALITATIVE TEST

- Allow the reagents to reach room temperature (20 - 30°C).
- Gently shake the reagent vial to disperse and suspend the latex particles in the buffer solution. Vigorous shaking should be avoided.
- Place 50 µl of the sample (or one drop of control) onto one section of the slide.
- Shake the reagent vial and add one drop of reagent next to the drop of sample.
- Mix both drops with a stirrer covering the whole surface of the slide section.
- Rotate the slide for 3 minutes manually or on a rotary shaker set at 80-100 rpm.
- Observe for agglutination.

## Interpretation of the results

POSITIVE REACTIONS:

Presence of agglutination. Sample contains IM heterophile antibodies.

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

NEGATIVE REACTIONS:

Absence of agglutination, uniform suspension.

## SEMIQUANTITATIVE TEST

- Place 50 µl of normal saline onto slide sections 1 through 6.
- Using an automatic pipette, place 50 µl of the sample onto slide section 1.
- Using the same pipette take in and release the sample and the saline solution on section 1 several times until they are well mixed.
- Take 50 µl of the mixture made on section 1 and transfer it to section 2.
- Repeat the aforementioned operations to obtain a thorough mixing of reagents, through section 6, thereafter discarding 50 µl.
- Test each dilution as described in the section QUALITATIVE TEST.

## Interpretation of the results

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

## Limitations of the procedure

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

## Expected values

Different studies (11,12) of presence of IM heterophile antibodies in blood donors show that the incidence of the disease ranges from 0.9 to 1.7% of population. As presence of heterophile antibodies indicates a relatively recent infection, these results suggest that the true incidence of the disease is higher than the number of diagnosed cases.

## Performance characteristics

Evaluations comparing **monogen** to a commercially available differential hemagglutination test were performed to determine the sensitivity and specificity of the reagent. 106 positive sera and 114 negative sera were selected by a differential hemagglutination slide test for the study. Discrepancies between the results given by **monogen** and the hemagglutination test were resolved using Epstein-Barr Virus (EBV) specific serological assays.

In these assays, the titers of specific antibodies to the EBV capsid antigen (both IgG and IgM), EBV early antigen (both diffused -D- and restricted -R-) and EBV nuclear antigen were determined. The results of these assays specified whether an EBV infection was recent or acute, in which case the serum was considered positive, or if antibodies were absent or relics of an old infection, in which case the serum was considered negative. Twelve of the 100 nondiscrepant positive sera and five of the 106 nondiscrepant negative sera were also analyzed using these same EBV specific serological assays. In all cases the EBV specific assay confirmed the positivity or negativity of the samples.

Compared with hemagglutination, **monogen** was found to have a sensitivity of 94% and a specificity of 93%. Assuming that the concordant results of the EBV serology performed on nondiscrepant sera apply to all the samples tested, it can be inferred that the sensitivity of **monogen** relative to EBV specific tests is 99% and its specificity relative to the same is 93%. There was only one result negative to **monogen** and positive to EBV serology. It was determined to be a recent infection and not an acute infection due to the absence of anti-VCA IgM and nuclear antigen. For this reason this negative result cannot be interpreted as prozone effect.

In a separate study **monogen** was compared to a qualitative red horse cell slide test involving a total of 224 EDTA plasma samples. There was complete agreement in test results which included 51 positive and 173 negative samples. Overall, the results of this study indicate clearly that **monogen** is highly sensitive and specific for the diagnosis of IM.

A panel of 10 positive serum samples was tested on three consecutive days using the semiquantitative technique. The results of the study indicate that **monogen** has 100% precision. The error of repeated estimations was expected to be only one doubling dilution.

## References

1. Davidsohn I, Stern K and Kashiwagi C. The Differential Test for Infectious Mononucleosis. *Amer J Clin Pathol* 21: 1101-1113, 1951.
2. Paul JR and Bunnell WW. The Presence of Heterophile Antibodies in Infectious Mononucleosis. *Amer J Med Sci* 183: 90-104, 1932.
3. Beer P. The Heterophile Antibodies in Infectious Mononucleosis and after the Injection of Serum. *J Clin Invest* 15: 591-599, 1936.
4. Bailey GH and Raffel S. Hemolytic Antibodies for Sheep and Ox Erythrocytes in Infectious Mononucleosis. *J Clin Invest* 14: 228-244, 1935.
5. Forssman J. Die Herstellung Hochwertiger Spezifischer Schaffhämolyse ohne Verwendung von Schafblut. *Biochem Ztschr.* 37: 78-115, 1911.
6. Davidsohn I. Serologic Diagnosis of Infectious Mononucleosis. *JAMA* 108: 289-295, 1937.
7. Stuart CA, Burgess AM, Lawson HA and Wellman HE. Some Cytologic and Serologic Aspects of Infectious Mononucleosis. *Arch Intern Med* 54: 199-214, 1934.
8. Henle G, Henle W and Diehl V. Relation of Burkitt's Tumor-Associated Herpes-Type Virus to Infectious Mononucleosis. *Proc Nat Acad Sci USA* 59: 94-101, 1968.
9. Hoagland RJ. The Transmission of Infectious Mononucleosis. *Amer J Med Sci* 229: 262-272, 1955.
10. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. CDC/NIH manual, 4th Edition, 1999
11. Barret AM. The Serological Diagnosis of Glandular Fever (Infectious Mononucleosis): a New Technique. *J Hyg* 41: 330, 1941.
12. Virtanen, S. Incidence of Infectious Mononucleosis Antibodies in Blood Donors. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 56: 53-56, 1962.

---

## monogen

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

**monogen ajuda no diagnóstico da mononucleose infecciosa.**

---

## Sumário

A mononucleose infecciosa (MI) é uma patologia infecciosa grave de etiologia viral. Os sintomas mais frequentes são febre, irritação de garganta, linfadenopatia dolorosa, perda de apetite, mal-estar, cefaléia e mialgia. Na maioria de pacientes também se dá uma esplenomegalia. Aparece uma erupção macular, máculo-papular ou petequiral em até 50% dos casos, mas tais erupções ocorrem habitualmente em pacientes que foram tratados com ampicilina.

Entre as complicações da MI encontramos a faringite bacteriana secundária, ruptura do baço, anemia hemolítica auto-imune, trombocitopenia auto-imune, miocardite, hepatite e infecção do sistema nervoso central com meningoencefalite ou mielite transversa. Os casos letais de MI fulminante ou hipogammaglobulinemia adquirida são pouco frequentes.

É muito difícil diagnosticar a doença somente com base no histórico clínico e na sintomatologia. Publicaram-se inúmeros casos nos quais a MI foi erroneamente identificada como outras patologias bacterianas e virais não relacionadas (1). Portanto, os testes hematológicos e sorológicos são de grande ajuda no diagnóstico.

Em 1932, Paul e Bunnell (2) descobriram que os soros dos doentes de MI apresentam anticorpos heterófilos contra eritrócitos de ovelha. Também se descreveram aglutininas de glóbulos vermelhos procedentes de outros mamíferos (3,4). As proteínas responsáveis por esta aglutinação são glicoproteínas procedentes de membranas eritrocitárias denominadas antígeno de Paul-Bunnell por diversos autores. Os estudos levados a cabo com estas glicoproteínas demonstram que as que foram obtidas por purificação de eritrócitos bovinos são os mais sensíveis aos anticorpos heterófilos da MI. Os anticorpos heterófilos contra eritrócitos de ovelha (que são diferentes aos que aparecem durante a MI) também podem ser detectados nos soros de pessoas sãs, pessoas a quem se tenha injetado soro, e outras (3,5).

Tradicionalmente, os anticorpos heterófilos da MI se distinguiram de outros do mesmo tipo com um teste de absorção "diferencial" (6,7) com eritrócitos bovinos e tecido renal de cobaias. Agora, o uso de um antígeno Paul-Bunnell purificado e unido a partículas de látex proporciona um método simples com mais sensibilidade para detectar especificamente anticorpos heterófilos associados à MI.

Em 1968, descreveu-se o agente etiológico da MI (8). Denominou-se vírus de Epstein-Barr (EBV), membro do grupo de vírus do herpes. Como consequência, desenvolveram-se diversas técnicas que utilizam antígenos relacionados ao EBV.

A forma de transmissão da MI parece ser o contato salival íntimo, a contaminação por saliva de recipientes para comer e beber e a disseminação aérea do EBV (9).

## Princípio

O reativo **monogen** é uma suspensão de partículas de látex de poliestireno de tamanho uniforme recobertas com antígeno de Paul-Bunnell altamente purificado de eritrócitos bovinos. O grau de pureza dos antígenos é tal que o **monogen** só reage com anticorpos heterófilos de MI. Por esta razão, não é necessária a absorção "diferencial".

As partículas de látex permitem visualizar a reação antígeno-anticorpo. Se anticorpos heterófilos de MI estão presentes na amostra, a suspensão de látex perde seu aspecto homogêneo, evidenciando-se uma clara aglutinação.

## Valori attesi

Differenti studi (11,12) sulla presenza di anticorpi eterofili della MI in donatori di sangue mostrano l'incidenza della malattia nello 0,9-1,7% della popolazione. Come la presenza di anticorpi indica una infezione relativamente recente, questi risultati ci suggeriscono che i casi diagnosticati sono maggiori della vera incidenza della malattia.

## Caratteristiche di funzionalità

Le valutazioni che hanno comparato **monogen** con un test di emoagglutinazione differenziale disponibile nel mercato sono state effettuate per determinare la sensibilità e la specificità del reagente. Sono stati selezionati 106 sieri positivi e 114 sieri negativi per lo studio con un test di emoagglutinazione differenziale su vetrino. Le discrepanze tra i risultati ottenuti dal **monogen** e il test di emoagglutinazione si sono risolte utilizzando test sierologici specifici per il virus di Epstein-Barr (EBV).

In questi test si sono determinati i titoli di anticorpi specifici contro l'antigene del capsido dell'EBV (sia IgG, che IgM), l'antigene precoce dell'EBV (sia diffuso -D- che limitato -R-) e l'antigene nucleare dell'EBV. I risultati di detti test specificavano se l'infezione da EBV era recente o acuta, in che casi si considerava che il siero era positivo, oppure se c'era assenza di anticorpi o residui di un pregressa infezione, circostanza in cui il siero si considerava negativo. Sono stati anche analizzati dodici dei 100 sieri positivi non discrepanti e cinque dei 106 negativi non discrepanti utilizzando questi stessi test sierologici specifici per l'EBV. In tutti i casi, il test specifico per l'EBV ha confermato il carattere positivo o negativo dei campioni.

Rispetto all'emoagglutinazione, si è rilevato che il **monogen** presentava una sensibilità del 94% e una specificità del 93%. Se si assume che i risultati concordanti della sierologia dell'EBV ottenuti dai sieri non discrepanti sono applicabili a tutti i campioni studiati, si può dedurre che la sensibilità di **monogen** relativa ai test specifici dell'EBV è del 99% e la sua specificità del 93%. C'è stato solo un risultato negativo con **monogen** e positivo con la sierologia dell'EBV. Si è determinato che era un'infezione recente e non acuta per l'assenza di IgM anti-VCA e di antigene nucleare. Per questo motivo non si può interpretare questo risultato negativo come un effetto prozona.

In uno studio a parte venne comparato **monogen** con un test qualitativo di globuli rossi di cavallo con un totale di 224 campioni di plasma EDTA. C'è stata piena corrispondenza nei risultati dei test che includevano 51 campioni positivi e 173 negativi. In generale, i risultati di questo studio indicano chiaramente che **monogen** presenta un elevato grado di sensibilità e di specificità per la diagnosi della MI.

Venne studiato un pannello di 10 campioni positivi di siero in tre giorni consecutivi utilizzando la tecnica semiquantitativa. I risultati dello studio indicano che **monogen** presenta una precisione del 100%. Il valore dell'errore in stime ripetute non dovrebbe essere superiore a una diluizione doppia.

## Bibliografia

Vedere "References" nel testo inglese.

---

## monogen

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

**monogen ayuda en el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa.**

---

## Sumario

La mononucleosis infecciosa (MI) es una enfermedad infecciosa grave de etiología viral. Los síntomas más frecuentes son fiebre, irritación de garganta, linfadenopatía dolorosa, pérdida de apetito, malestar, cefalea y mialgia. En la mayoría de pacientes también se da una esplenomegalia. Aparece una erupción macular, maculopapular o petequeal en hasta un 50% de los casos, pero dichas erupciones se dan habitualmente en pacientes que han sido tratados con ampicilina.

Entre las complicaciones de la MI encontramos faringitis bacteriana secundaria, ruptura del bazo, anemia hemolítica autoinmune, trombocitopenia autoinmune, miocarditis, hepatitis e infección del sistema nervioso central con meningoencefalitis o mielitis transversa. Los casos letales de MI fulminante o hipogammaglobulinemia adquirida son muy poco frecuentes.

Diagnosticar la enfermedad únicamente sobre la base de la historia clínica y la sintomatología es difícil. Se han publicado numerosos casos en los que la MI ha sido erróneamente identificada como otras enfermedades bacterianas y virales no relacionadas (1). Por ello, las pruebas hematológicas y serológicas resultan de gran ayuda en el diagnóstico.

En 1932, Paul y Bunnell (2) detectaron que los sueros de los enfermos de MI presentan anticuerpos heterófilos contra eritrocitos de oveja. También se describieron aglutininas de glóbulos rojos procedentes de otros mamíferos (3,4). Las proteínas responsables de esta aglutinación son glicoproteínas procedentes de membranas eritrocitarias denominadas antígeno de Paul-Bunnell por diversos autores. Los estudios llevados a cabo con estas glicoproteínas muestran que las que se han obtenido por purificación de eritrocitos bovinos son las más sensibles a los anticuerpos heterófilos de la MI. Los anticuerpos heterófilos contra eritrocitos de oveja (que son diferentes a los que aparecen durante la MI) también pueden detectarse en los sueros de personas sanas, personas a quienes se les haya inyectado suero, y otras (3,5).

Tradicionalmente, los anticuerpos heterófilos de la MI se han distinguido de otros del mismo tipo por una prueba de absorción "diferencial" (6,7) con eritrocitos bovinos y tejido renal de cobayas. Ahora, el uso de un antígeno Paul-Bunnell purificado y unido a partículas de látex proporciona un método simple con mayor sensibilidad para detectar específicamente anticuerpos heterófilos asociados a la MI.

En 1968, se describió el agente etiológico de la MI (8). Se denominó virus de Epstein-Barr (EBV), miembro del grupo de virus de herpes. Como consecuencia, se han desarrollado diversas técnicas que utilizan antígenos relacionados con el EBV.

La forma de transmisión de la MI parece ser el contacto salival íntimo, la contaminación por saliva de recipientes para comer y beber y la diseminación aérea del EBV (9).

## Principio

El reactivo **monogen** es una suspensión de partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme sobre las cuales se ha absorbido antígeno Paul-Bunnell de eritrocitos bovinos, altamente purificado. El grado de pureza del antígeno es tal que el reactivo **monogen** sólo reacciona con anticuerpos heterófilos de MI. Por esta razón, no es necesaria la absorción "diferencial".

Las partículas de látex ponen de manifiesto la reacción antígeno-anticuerpo. Si debido a la presencia de anticuerpos heterófilos de MI tiene lugar dicha reacción, la suspensión de látex pierde su aspecto uniforme haciéndose evidente una clara aglutinación.

## Reactivos

- Reactivo látex:**  
Suspensión de partículas de látex de poliestireno sensibilizadas con antígeno Paul-Bunnell. Contiene azida sódica < 0,1%.
- Control positivo:**  
IgG de conejo contra el antígeno de Paul-Bunnell diluido en un tampón. Contiene azida sódica < 0,1%.
- Control negativo:**  
Suero humano negativo diluido. Contiene azida sódica < 0,1%.

## Precauciones

**monogen** es sólo para el diagnóstico IN VITRO.

Los reactivos contienen azida sódica como conservante. Las azidas pueden reaccionar con tuberías y desagües metálicos dando lugar a compuestos explosivos. Al tirar los restos de reactivos, dejar correr agua suficiente.

Todo el material de origen humano utilizado en la preparación de los reactivos ha sido encontrado negativo a la presencia de anticuerpos de los virus HIV 1/2 y HCV, así como a la del antígeno de superficie de la hepatitis B, por un método aprobado por la FDA.

**ATENCIÓN: MATERIAL DE RIESGO BIOLÓGICO.**

Ya que ningún método puede ofrecer la total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos, los reactivos deben ser manejados con precaución (10). Depositar todos los materiales usados en recipientes adecuados para material biocontaminante.

## Conservación

Los reactivos permanecerán inalterados hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se almacenan entre 2 y 8°C. No congelar. Los reactivos pueden resultar dañados por un manejo inadecuado, especialmente si se someten a temperaturas extremas.

El reactivo látex, una vez agitado, debe ser uniforme y no presentar agregados visibles. Cuando se almacena puede producirse una ligera sedimentación que debería considerarse normal.

No utilizar reactivos que se hayan contaminado.

El gotero de reactivo dispensa gotas de 28 µl ± 10%. El gotero debe estar colocado perpendicular a la superficie del portaobjetos y sólo deberá caer una gota. No se debe utilizar otro gotero sin comprobar previamente el tamaño de la gota.

## Presentaciones disponibles

- REF** 3000-1001, kit 50 tests.  
1 x 1,4 ml reactivo, 1 ml control positivo, 1 ml control negativo y 9 x 6 portaobjetos desechables.
- REF** 3000-1002, kit 150 tests.  
3 x 1,4 ml reactivo, 2 ml control positivo, 2 ml control negativo y 27 x 6 portaobjetos desechables.

## Material necesario no incluido

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

## Recolección de la muestra

Suero:

Se debe utilizar suero fresco recogido mediante centrifugación de sangre coagulada. Si la prueba no puede llevarse a cabo el mismo día, puede almacenarse durante un máximo de 8 días tras la recolección de la muestra, a una temperatura de 2-8°C. Para períodos más largos, las muestras deben congelarse (-20°C).

Plasma:

Recoger la sangre en un tubo que contenga anticoagulante (EDTA). Otros anticoagulantes deben comprobarse antes de su uso. Centrifugar para separar el plasma de los elementos celulares. Analizar la muestra a lo largo de las 24 horas siguientes a la recolección de la sangre.

No utilizar muestras hemolizadas o contaminadas.

## PROCEDURA

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

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

## TEST QUALITATIVO

- Portare tutti i reattivi a temperatura ambiente (20 - 30°C).
- Agitare dolcemente il flacone del reagente per disperdere e sospendere le particole di lattice nella soluzione tampone. Si deve agitare energicamente.
- Mettere 50 µl di campione (o una goccia di controllo) in una sezione del vetrino.
- Agitare la fiala di reagente e aggiungere una goccia di reagente vicino a quella del campione.
- Miscelare entrambe le gocce con un agitatore utilizzando l'intera superficie della sezione del vetrino.
- Rotolare manualmente il vetrino per 3 minuti oppure su un agitatore automatico a 80-100 rpm.
- Controllare la presenza o l'assenza di agglutinazione.

## Interpretazione dei risultati

### REAZIONI POSITIVE:

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

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

### REAZIONI NEGATIVE:

Non presenta agglutinazione, sospensione uniforme.

## TEST SEMIQUANTITATIVO

- Mettere 50 µl di soluzione salina nelle sezioni del vetrino da 1 a 6.
- Con una pipetta automatica mettere 50 µl di campione nelle sezioni 1.
- Con la stessa pipetta miscelare il campione con la salina nella sezione 1 del vetrino.
- Prendere 50 µl di questa miscela dalla sezione 1 e trasferirlo nella sezione 2.
- Ripetere questa operazione trasferendo 50 µl dalla sezione 2 alla 3 fino alla sezione 6. Scartare 50 µl dalla sezione 6.
- Misurare ogni diluizione come descritto nella sezione TEST QUALITATIVO.

## Interpretazione dei risultati

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

## Limitazioni della procedura

- Come con tutte le determinazioni, i risultati del test devono essere interpretati considerando i sintomi clinici dei pazienti.
- Occasionalmente i sintomi della MI sono precoci rispetto ai livelli misurabili di anticorpi eterofili. Se i sintomi persistono si raccomanda di ripetere il test alcuni giorni dopo. Alcuni pazienti rimangono negativi, specialmente bambini ed adolescenti. Hanno riscontrato una percentuale compresa tra 80-90% di adulti e meno di 50% di bambini che sviluppano anticorpi eterofili.
- Le reazioni false positive sono state riscontrate in campioni di siero raccolti da pazienti con infezioni recenti da citomegalovirus, virus epatite A, parvovirus, leptospira.
- Livelli misurabili di anticorpi eterofili possono resistere, in alcuni individui, per mesi, e raramente per anni.
- Anche se il titolo degli anticorpi eterofili ha poca relazione con la gravità dell'infezione, si può utilizzare il metodo semiquantitativo per seguire l'evoluzione della malattia.

## Reagenti

- a) **Reattivo lattice:**  
Sospensione di particelle al lattice di polistirene, sensibilizzata con antigene Paul-Bunnell. Contiene < 0,1% di sodio azide.
- b) **Controllo positivo:**  
IgG di coniglio contro l'antigene di Paul-Bunnell diluito in un tampone. Contiene < 0,1% di sodio azide.
- c) **Controllo negativo:**  
Siero umano non reattivo diluito. Contiene < 0,1% di sodio azide.

## Precauzioni

**monogen** è per uso diagnostico IN VITRO.

I reattivi di questo kit contengono sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con il piombo o in rame formando composti altamente esplosivi, perciò lavare abbondantemente con acqua le tubature per evitarne l'accumulo.

Il siero umano utilizzato nella preparazione di questo kit è risultato, in base a metodi approvati dalla FDA, negativo per la ricerca di anticorpi anti-HIV 1/2, anti-HCV e HBsAg.

**ATTENZIONE: MATERIALE POTENZIALMENTE BIOPERICOLOSO.**

Comunque, poiché nessun metodo oggi conosciuto può garantire la totale assenza di agenti infettivi, ogni reagente del kit deve essere considerato potenzialmente infettivo e si deve trattare con cura (10).

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

## Conservazione

Tutti i componenti del kit sono stabili fino alla data di scadenza se conservati a 2-8°C. Non congelare. I reagenti si possono danneggiare a seguito di un uso improprio, in particolare modo per esposizione a temperature estreme.

Il reagente al lattice, una volta agitato, deve essere uniforme e non presentare aggregati visibili. Durante lo stoccaggio si può produrre una leggera sedimentazione, che si deve considerare normale.

Non utilizzare reagenti che si siano contaminati.

Il contagocce del reagente eroga gocce di 28 µl ± 10%. Il contagocce deve essere collocato in posizione perpendicolare alla superficie del vetrino e dovrà cadere solo una goccia. Non si deve utilizzare un altro contagocce senza aver preventivamente verificato le dimensioni della goccia.

## Confezioni disponibili

- **REF** 3000-1001, kit 50 tests.  
1 x 1,4 ml di reagente, 1 ml di controllo positivo, 1 ml di controllo negativo e 9 x 6 vetrini monouso.
- **REF** 3000-1002, kit 150 tests.  
3 x 1,4 ml di reagente, 2 ml di controllo positivo, 2 ml di controllo negativo e 27 x 6 vetrini monouso.

## Materiale necessario non incluso

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

## Raccolta dei campioni

**Siero:**

Si deve utilizzare siero fresco raccolto mediante centrifugazione di sangue coagulato. Se il test non può essere realizzato lo stesso giorno, il siero può essere immagazzinato per un massimo di 8 giorni dal prelievo del campione, a una temperatura di 2-8°C. Per periodi di tempo più lunghi, il campione deve essere congelato (-20°C).

**Plasma:**

Raccogliere il sangue in una provetta che contenga anticoagulante (EDTA). Altri anticoagulanti devono essere verificati prima del loro uso. Centrifugare per separare il plasma dagli elementi cellulari. Analizzare il campione nelle 24 ore successive al prelievo del sangue.

Non utilizzare campioni emolizzati o contaminati.

## PROCEDIMENTO

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

## TEST CUALITATIVO

- Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20 - 30°C).
- Agitar suavemente el vial del reactivo para dispersar y suspender las partículas de látex en la solución tampón. Debe evitarse agitarlo vigorosamente.
- Dosificar 50 µl de muestra (o una gota de control) en una de las secciones del portaobjetos.
- Agitar el vial del reactivo y añadir una gota del reactivo junto a la gota de muestra.
- Mezclar ambas gotas con un palillo cubriendo toda la superficie de la sección del portaobjetos.
- Agitar el portaobjetos con un suave movimiento de rotación ya sea manualmente o en un agitador rotatorio (80-100 rpm) durante 3 minutos.
- Observar la presencia o ausencia de aglutinación.

## Interpretación de los resultados

### REACCIONES POSITIVAS:

Presencia de aglutinación. La muestra contiene anticuerpos heterófilos de MI.

3+ Agregados grandes sobre fondo transparente.

2+ Agregados moderados sobre fondo ligeramente opaco.

1+ Agregados finos sobre fondo opaco.

### REACCIONES NEGATIVAS:

Ausencia de aglutinación, suspensión uniforme.

## TEST SEMICUANTITATIVO

- Dosificar 50 µl de solución salina en cada una de las secciones 1 a 6 del portaobjetos.
- Dosificar con una pipeta automática 50 µl de muestra en la sección 1 del portaobjetos.
- Con la misma pipeta aspirar y expulsar varias veces la muestra y la solución salina contenidas en la sección 1 hasta lograr una buena mezcla.
- Tomar 50 µl de la mezcla realizada en la sección 1 y transferirlos a la sección 2.
- Realizar las mismas operaciones descritas anteriormente para lograr la mezcla correcta de los reactivos hasta la sección 6 y desechar entonces 50 µl.
- Comprobar cada dilución como está descrito en el apartado TEST CUALITATIVO.

## Interpretación de los resultados

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

## Limitaciones del procedimiento

- Igual que en otras pruebas de diagnóstico, los resultados deben ser evaluados en función del resto de información clínica, hematológica y serológica del paciente.
- Ocasionalmente, pacientes con síntomas de MI pueden tardar en desarrollar niveles detectables de anticuerpos. Si los síntomas persisten se recomienda repetir la prueba al cabo de unos días. Algunos pacientes pueden persistir permanentemente negativos, especialmente niños y adolescentes. Se ha publicado que sólo de un 80 a un 90% de los adultos y menos de un 50% de los jóvenes desarrollan anticuerpos heterófilos.

- Se han descrito reacciones falsamente positivas al utilizar kits para la detección de anticuerpos heterófilos de MI con muestras de pacientes con infección reciente de citomegalovirus, virus de la hepatitis A, parvovirus y leptospira.
- En algunos individuos pueden persistir niveles detectables de anticuerpos heterófilos durante meses y más raramente durante años.
- Si bien los títulos de los anticuerpos heterófilos guardan poca relación con la gravedad de la infección, puede utilizarse el método semicuantitativo para seguir la evolución de la enfermedad.

## Valores previstos

Diferentes estudios (11,12) realizados en donantes de sangre indican que la presencia de anticuerpos heterófilos de MI oscila entre un 0,9 y un 1,7% de la población. Puesto que la presencia de dichos anticuerpos indica una infección relativamente reciente, estos resultados sugieren que la incidencia real de la enfermedad puede ser mayor que el número de casos diagnosticados.

## Características funcionales

Las evaluaciones que compararon **monogen** con una prueba de hemaglutinación diferencial disponible en el mercado se llevaron a cabo para determinar la sensibilidad y especificidad del reactivo. Se seleccionaron 106 sueros positivos y 114 sueros negativos para el estudio con una prueba de hemaglutinación diferencial en portaobjetos. Las discrepancias entre los resultados obtenidos por **monogen** y la prueba de hemaglutinación se resolvieron utilizando ensayos serológicos específicos del virus de Epstein-Barr (EBV).

En estos ensayos, se determinaron los títulos de anticuerpos específicos contra el antígeno de cápside del EBV (tanto IgG como IgM), el antígeno precoz del EBV (tanto difuso -D- como restringido -R-) y el antígeno nuclear del EBV. Los resultados de dichos ensayos especificaban si la infección por EBV era reciente o aguda, en qué casos se consideraba que el suero era positivo, o si había ausencia de anticuerpos o restos de una infección anterior, circunstancia en la que el suero se consideraba negativo. Doce de los 100 sueros positivos no discrepantes y cinco de los 106 negativos no discrepantes también se analizaron utilizando estos mismos ensayos serológicos específicos del EBV. En todos los casos, el ensayo específico del EBV confirmó el carácter positivo o negativo de las muestras.

Comparado con la hemaglutinación, se detectó que **monogen** presentaba una sensibilidad del 94% y una especificidad del 93%. Si se asume que los resultados concordantes de la serología del EBV obtenidos de los sueros no discrepantes son aplicables a todas las muestras estudiadas, se puede deducir que la sensibilidad de **monogen** relativa a las pruebas específicas del EBV es del 99% y su especificidad, del 93%. Únicamente hubo un resultado negativo con **monogen** y positivo con la serología del EBV. Se determinó que era una infección reciente y no aguda debido a la ausencia de IgM anti-VCA y antígeno nuclear. Por este motivo, este resultado negativo no se puede interpretar como un efecto prozona.

En un estudio aparte se comparó **monogen** con una prueba cualitativa de glóbulos rojos de caballo con un total de 224 muestras de plasma EDTA. Hubo plena correspondencia en los resultados de las pruebas que incluían 51 muestras positivas y 173 negativas. En general, los resultados de este estudio indican claramente que **monogen** presenta un alto grado de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de la MI.

Se estudió un panel de 10 muestras positivas de suero en tres días consecutivos utilizando la técnica semicuantitativa. Los resultados del estudio indican que **monogen** presenta una precisión del 100%. Se espera que el valor del error en repetidas estimaciones no sea superior a una dilución doble.

## Bibliografía

Ver "Referencias" del texto inglés.

## monogen

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

## Sommario

La mononucleosi infettiva (MI) è una malattia infettiva grave ad eziologia virale. I sintomi più frequenti sono febbre, irritazione della gola, linfadenopatia dolorosa, perdita di appetito, malessere, cefalea e mialgia. Nella maggior parte dei pazienti si ha anche una splenomegalia. In una percentuale che può raggiungere il 50% dei casi, appare un rash maculare, maculopapulare o petecchiale; ma detti rash appaiono con maggiore frequenza in pazienti trattati con ampicillina.

Tra le complicazioni della MI troviamo la faringite batterica secondaria, la rottura della milza, l'anemia emolitica autoimmune, la trombocitopenia autoimmune, la miocardite, l'epatite e le malattie del sistema nervoso centrale con meningoencefalite o mielite trasversa. I casi letali di MI fulminante o di ipogammaglobulinemia acquisita sono molto poco frequenti.

Diagnosticare la malattia basandosi esclusivamente sull'anamnesi e sulla sintomatologia è difficile. Sono stati pubblicati numerosi casi in cui la MI è stata erroneamente identificata come un'altra malattia batterica o virale non relazionata (1). Per questo i test ematologici risultano di grande aiuto nella diagnosi.

Nel 1932, Paul e Bunnell (2) hanno rilevato che i sieri dei malati di MI presentano anticorpi eterofili contro gli eritrociti di pecora. Sono state anche descritte agglutinine di globuli rossi provenienti da altri mammiferi (3,4). Le proteine responsabili di questa agglutinazione sono le glicoproteine provenienti dalle membrane eritrocitarie, denominate da diversi autori antigene di Paul-Bunnell. Gli studi realizzati con queste glicoproteine mostrano che quelle ottenute per purificazione di eritrociti bovini sono le più sensibili agli anticorpi eterofili della MI. Gli anticorpi eterofili contro gli eritrociti di pecora (che sono diversi da quelli che appaiono durante la MI) possono essere rilevati anche nel siero delle persone sane, delle persone a cui sia stato trasfuso siero, e di altre (3,5).

Tradizionalmente, gli anticorpi eterofili della MI sono stati distinti da altri dello stesso tipo mediante un test di assorbimento "differenziale" (6,7) con eritrociti bovini e tessuto renale di cavie. Adesso, l'impiego di un antigene di Paul-Bunnell purificato e unito a particole di lattice fornisce un metodo semplice e più sensibile per rilevare in modo specifico gli anticorpi eterofili associati alla MI.

Nel 1968 venne descritto l'agente eziologico della MI (8). Venne denominato virus di Epstein-Barr (EBV), membro del gruppo herpes virus. Come conseguenza, sono state sviluppate diverse tecniche che impiegano antigeni relazionati con l'EBV.

Il modo di trasmissione della MI sembra che sia il contatto salivare intimo, la contaminazione da saliva di recipienti per cibi e bevande e la dispersione dell'EBV nell'aria (9).

## Principio

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

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

- Quoique les titres en anticorps hétérophiles aient peu de rapport avec la gravité de l'infection, on peut utiliser la méthode semi-quantitative pour suivre l'évolution de la maladie.

## Valeurs attendues

Différentes études (11,12) sur la présence d'anticorps hétérophiles de la MI chez les donneurs de sang ont montré que l'incidence de la maladie varie entre 0,9 et 1,7% de la population. Puisque la présence d'anticorps hétérophiles indique une infection relativement récente, ces résultats suggèrent que l'incidence réelle de la maladie est plus élevée que le nombre de cas diagnostiqués.

## Caractéristiques fonctionnelles

Les évaluations, comparant le **monogen** avec un test d'hémagglutination différentielle disponible sur le marché, ont été réalisées pour déterminer la sensibilité et la spécificité du réactif. Pour l'étude, 106 sérums positifs et 114 sérums négatifs ont été sélectionnés avec un test d'hémagglutination différentielle sur lame. Les divergences entre les résultats obtenus par le **monogen** et le test d'hémagglutination ont été résolues en utilisant des tests sérologiques spécifiques du virus d'Epstein-Barr (EBV).

Lors de ces tests, il a été déterminé les titres en anticorps spécifiques contre l'antigène de capsid de l'EBV (IgG et IgM), l'antigène précoce de l'EBV (diffus -D- et restreint -R-) et l'antigène nucléaire de l'EBV. Les résultats de ces tests spécifiaient si l'infection par l'EBV était récente ou aiguë, dans quels cas le sérum était considéré comme positif ou s'il existait une absence d'anticorps ou des restes d'une infection antérieure, le sérum étant considéré dans ce cas comme négatif. Douze des 100 sérums positifs non discordants et cinq des 106 négatifs non discordants ont également été analysés en utilisant ces mêmes tests sérologiques spécifiques de l'EBV. Dans tous les cas, le test spécifique de l'EBV a confirmé le caractère positif ou négatif des échantillons. Comparé avec l'hémagglutination, il a été détecté que le **monogen** présentait une sensibilité de 94% et une spécificité de 93%. Si on assume que les résultats concordants de la sérologie de l'EBV obtenus des sérums non discordants sont applicables à tous les échantillons étudiés, on peut déduire que la sensibilité du **monogen** relative aux tests spécifiques de l'EBV est de 99% et sa spécificité de 93%. Il n'y a eu qu'un résultat négatif avec le **monogen** et positif avec la sérologie de l'EBV. Il a été déterminé qu'il s'agissait d'une infection récente et non aiguë en raison de l'absence d'IgM anti-VCA et d'antigène nucléaire. C'est pourquoi ce résultat négatif ne peut pas être interprété comme un effet prozone.

Dans une étude à part, le **monogen** a été comparé avec un test qualitatif de globules rouges de cheval avec un total de 224 échantillons de plasma EDTA. Il y eu une correspondance parfaite dans les résultats des tests qui incluaient 51 échantillons positifs et 173 négatifs. En général, les résultats de cette étude indiquent clairement que le **monogen** présente une grande sensibilité et spécificité pour le diagnostic de la MI.

Un panel de 10 échantillons positifs de sérum a été étudié durant trois jours consécutifs en utilisant la technique semi-quantitative. Les résultats de l'étude indiquent que le **monogen** présente une précision de 100%. La valeur de l'erreur lors d'estimations répétées ne devrait pas dépasser une dilution double.

## Bibliographie

Voir "References" du texte anglais.

# monogen

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

**monogen hilft bei der Diagnose der infektiösen Mononukleose.**

## Zusammenfassung

Die infektiöse Mononukleose (IM) ist eine schwere infektiöse Erkrankung viraler Ätiologie. Die häufigsten Symptome sind Fieber, Halsentzündung, Lymphadenopathie, Appetitlosigkeit, Unwohlsein, Kopfschmerzen und Muskelschmerzen. Bei den meisten Patienten tritt auch Splenomegalie auf. In bis zu 50% der Fällen tritt ein makulöser, makulopapulärer oder petechialer Ausschlag auf; diese sind jedoch häufig bei Patienten, die mit Ampicillin behandelt wurden.

Zu den Komplikationen der IM gehören sekundäre bakterielle Pharyngitis, Milzbruch, autoimmunhämolytische Anämie, Autoimmunotrombozytopenie, Myokarditis, Hepatitis und Infektion des Zentralnervensystems mit Meningoenzephalitis oder Querschnittsmyelitis. Tödliche Fälle von fulminanter IM oder erworbener Hypogammaglobulinämie sind sehr selten.

Die Diagnose der Krankheit allein auf der Grundlage der Krankengeschichte und der Symptome gestaltet sich als schwierig. Es sind zahlreiche Fälle dokumentiert, in denen die IM fälschlich als andere, nicht damit in Zusammenhang stehende bakterielle oder virale Erkrankung identifiziert wurde (1). Aus diesem Grund stellen Blut- und Serumtests eine große Hilfe bei der Diagnose dar.

Im Jahr 1932 entdeckten Paul und Bunnell (2), dass das Serum von Patienten mit IM heterophile Antikörper gegen Schaf-Erythrozyten aufweist. Außerdem beschrieben sie Agglutinine von roten Blutkörperchen anderer Säugetiere (3,4). Verantwortlich für diese Agglutination sind aus Erythrozytenmembranen stammende Glykoproteine, die von verschiedenen Autoren Paul-Bunnell-Antigen genannt werden. Die durchgeführten Studien zeigen, dass die durch Reinigen von Rinder-Erythrozyten gewonnenen Glykoproteine für die heterophilen Antikörper der IM am sensitivsten sind. Die heterophilen Antikörper gegen Schaf-Erythrozyten (die sich von jenen, die während der IM auftreten, unterscheiden) können auch im Serum von gesunden Personen, bei Personen, denen Serum injiziert wurde, und anderen Personen (3,5) nachgewiesen werden.

Herkömmlicherweise wurden die heterophilen Antikörper der IM von anderen heterophilen Antikörpern durch einen Test der Absorptionsdifferenz (6,7) mit Rinder-Erythrozyten und Nierengewebe von Meerschweinchen unterschieden. Die Verwendung von gereinigten Paul-Bunnell-Antigenen auf Latex-Partikeln stellt nun eine einfache Methode mit höherer Sensitivität zum spezifischen Nachweis von heterophilen Antikörpern der IM dar.

Im Jahr 1968 wurde der Verursacher der IM (8) beschrieben. Er wurde Epstein-Barr-Virus (EBV) genannt und zählt zur Gruppe der Herpes-Viren. In der Folge wurde verschiedene Techniken entwickelt, für die Antigene eingesetzt werden, die mit dem EBV in Zusammenhang stehen. Die Übertragung der IM scheint durch intimen Speichelaustausch, die Verunreinigung von Ess- und Trinkgeschirr mit Speichel sowie durch die Verbreitung des EBV über die Atemluft zu erfolgen (9).

## Prinzip

Das **monogen**-Reagenz ist eine Suspension aus Polystyren-Latexpartikeln in gleichmässiger Grösse, die mit hochreinem Paul-Bunnell-Antigen aus Rinder-Erythrozytenmembranen beschichtet sind. Der Reinheitsgrad des Antigens ist sehr hoch, so dass **monogen** nur mit heterophilen IM-Antikörpern reagiert. Aus diesem Grund ist die Differentialabsorption nicht erforderlich.

Die Latexpartikel erlauben eine optische Erkennung der Antigen-Antikörper-Reaktion. Sind heterophile IM-Antikörper in der Probe enthalten, wird eine klare Agglutination sichtbar.

## Reagenzien

- Latex Reagenz:**  
Mit Paul-Bunnell-Antigen beschichtet Latexpartikel in Puffer. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- Positiv Kontrolle:**  
Kaninchen-IgG gegen Paul-Bunnell-Antigen verdünnt in Pufferlösung. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- Negativ Kontrolle:**  
Verdünntes, nicht reaktives Humanserum. Enthält < 0,1% Natriumazid.

## Vorsichtsmassnahmen

**monogen** ist ausschließlich für die IN VITRO-Diagnostik bestimmt. Die Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid kann auf Zinn- oder Kupfer-Rohrleitungen und -Abflüssen reagieren und ruft hochexplosive Azidmetalle hervor. Beim Entfernen der Reagenzreste muss mit genügend Wasser nachgespült werden. Alle in diesem Kit zur Kontrollherstellung benutzten Humanseren wurden mit einer von der FDA anerkannten Methode auf HbsAg, HIV 1/2 und HCV Antikörper untersucht und für negativ befunden. ACHTUNG: BIOLOGISCH GEFÄHRLICHES MATERIAL. Da keine Methode eine absolute Erregerfreiheit garantieren kann, müssen die Reagenzien mit Vorsicht gehandhabt werden (10). Alle benutzten Materialien sind separat in Behältern für biologische Abfälle zu entsorgen.

## Lagerung

Bei einer Lagerungstemperatur von 2-8°C bleiben Reagenz und Kontrollen bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nicht einfrieren. Die Reagenzien können durch falsche Handhabung, insbesondere durch hohe Temperaturen, unbrauchbar werden. Das Latex-Reagenz muss nach dem Schütteln ein gleichmäßiges Aussehen ohne sichtbare Klumpen aufweisen. Durch die Lagerung kann sich eine leichte Ablagerung bilden, die als normal anzusehen ist. Verwenden Sie keine kontaminierten Reagenzien. Die Tropfflasche des Reagenz gibt Tropfen zu  $28 \mu\text{l} \pm 10\%$  ab. Die Tropfflasche muss senkrecht zur Oberfläche des Objektträgers gehalten werden und darf jeweils nur einen Tropfen abgeben. Verwenden Sie keine andere Tropfflasche, ohne vorher die Tropfengröße zu überprüfen.

## Packungsgrößen

- REF** 3000-1001, Kit 50 Tests.  
1 x 1,4 ml Reagenz, 1 ml positive Kontrolle, 1 ml negative Kontrolle, 9 x 6 Einmal-Objektträger.
- REF** 3000-1002, Kit 150 Tests.  
3 x 1,4 ml Reagenz, 2 ml positive Kontrolle, 2 ml negative Kontrolle, 27 x 6 Einmal-Objektträger.

## Erforderliches, nicht mitgeliefertes Material

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

## Probenmaterial

**Serum:**  
Zu verwenden ist frisches Serum, das durch zentrifugieren von geronnenem Blut gewonnen wurde. Wenn der Test nicht am gleichen Tag durchgeführt werden kann, kann das Serum bis zu 8 Tagen nach der Probennahme bei Temperaturen zwischen 2 und 8°C aufbewahrt werden. Für längere Zeiträume sind die Proben einzufrieren (-20°C).

**Plasma:**  
Das Blut ist in einem Röhrchen mit Antikoagulans (EDTA) aufzufangen. Andere Antikoagulantien sind gegebenenfalls vor Gebrauch auf ihre Verwendbarkeit zu überprüfen. Zur Trennung des Plasmas von den Blutzellen ist das Blut zu zentrifugieren. Die Probe ist innerhalb von 24 Stunden nach der Blutentnahme zu analysieren.

Hämolytierte oder kontaminierte Proben sollten nicht verwendet werden.

## PROCÉDURE

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

## TEST QUALITATIF

- Attendre que les réactifs atteignent la température ambiante (20 - 30°C).
- Agiter doucement le flacon de réactif pour disperser et suspendre les particules de latex dans la solution tampon. Il faut éviter d'agiter le flacon vigoureusement.
- Déposer 50  $\mu\text{l}$  de l'échantillon (ou une goutte de contrôle) sur une des sections de la lame.
- Agiter le flacon du réactif et ajouter une goutte de réactif à côté de la goutte d'échantillon.
- Mélanger les deux gouttes avec un bâtonnet en recouvrant toute la surface de la section de la lame.
- Agiter la lame avec un léger mouvement de rotation, manuellement ou à l'aide d'un agitateur rotatif (80-100 tpm) pendant 3 minutes.
- Vérifier la présence ou l'absence d'agglutination.

## Interprétation des résultats

### RÉACTIONS POSITIVES:

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

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

### RÉACTIONS NÉGATIVES:

Absence d'agrégats, suspension uniforme.

## TEST SEMI-QUANTITATIF

- Déposer 50  $\mu\text{l}$  de solution saline sur les sections 1 à 6 de la lame.
- Déposer à l'aide d'une pipette automatique 50  $\mu\text{l}$  de l'échantillon sérum sur la section 1 de la lame.
- Avec la même pipette mélanger l'échantillon et la solution saline de la section 1 plusieurs fois.
- Prélever 50  $\mu\text{l}$  de la dilution obtenue dans la section 1 et les transférer dans la section 2.
- Répéter l'étape antérieure et suivre de suite jusqu'à la section 6, prélever 50  $\mu\text{l}$  et les jeter.
- Analyser chaque dilution selon est décrite dans la section TEST QUALITATIF.

## Interprétation des résultats

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

## Limites de la procédure

- Les résultats doivent être interprétés en accord avec le bilan clinique, hématologique et sérologique du patient.
- Occasionnellement, chez des patients symptomatiques de la MI, les concentrations détectables d'anticorps hétérophiles apparaissent tardivement. Si les symptômes persistent, il est recommandé de réaliser un nouveau test quelques jours après. Certains patients ne développent pas d'anticorps hétérophiles, particulièrement les enfants et les adolescents. D'après la littérature, 80 à 90% des adultes et moins de 50% des enfants développent des anticorps hétérophiles.
- Des réactions faussement positives ont été obtenues avec des échantillons sériques de patients ayant été infectés par le cytomégalovirus, le virus de l'hépatite A, le parvovirus et la leptospirose.
- Chez certains individus des concentrations détectables d'anticorps hétérophiles peuvent persister pendant des mois, et plus rarement pendant des années.

## Réactifs

- Réactif latex:**  
Suspension de particules de latex sensibilisées avec l'antigène de Paul-Bunnell. Contient < 0,1% d'azide de sodium.
- Contrôle positif:**  
IgG de lapin contre l'antigène de Paul-Bunnell dilué dans un tampon. Contient < 0,1% d'azide de sodium.
- Contrôle négatif:**  
Sérum humain dilué. Contient < 0,1% d'azide de sodium.

## Précautions

**monogen** est destiné à un usage diagnostique IN VITRO.

Les réactifs contiennent de l'azide sodique comme conservateur. Les azides peuvent réagir avec des canalisations métalliques et former des composés explosifs. Après élimination, rincer abondamment avec de l'eau.

Chaque sérum utilisé dans la préparation des réactifs a été testé par une méthode validée par le FDA pour la recherche des anticorps anti-HIV 1/2 et anti-HCV ainsi que pour celle de l'antigène de surface de l'hépatite B. Cette recherche s'est avérée négative.

ATTENTION: MATÉRIEL À RISQUE BIOLOGIQUE.

Dépendant aucune méthode n'offrant une assurance complète quant à l'absence d'agents infectieux, les réactifs sont à manipuler avec précaution (10).

Déposer tout le matériel utilisé dans des récipients conçus pour le matériel biocontaminant.

## Conservation

Les réactifs restent stables jusqu'à la date limite indiquée sur l'étiquette, lorsque ceux-ci sont conservés à une température d'entre 2 et 8°C. Ne pas congeler. Les réactifs peuvent se détériorer par une manipulation incorrecte, en particulier s'ils sont soumis à des températures extrêmes.

Après agitation, le réactif latex doit être uniforme et ne présenter aucun agrégat visible. Lors du stockage, il peut se produire une légère sédimentation qui doit être considérée comme normale.

Éviter d'utiliser des réactifs contaminés.

Le compte-goutte du réactif dispense des gouttes de 28 µl ± 10%. Le compte-goutte doit être placé perpendiculairement à la surface de la lame et il ne faut laisser tomber qu'une goutte. Ne pas utiliser un autre compte-goutte sans avoir contrôlé au préalable la taille de la goutte.

## Présentations disponibles

- REF** 3000-1001, kit 50 tests.  
1 x 1,4 ml réactif, 1 ml contrôle positif, 1 ml contrôle négatif et 9 x 6 lames jetables.
- REF** 3000-1002, kit 150 tests.  
3 x 1,4 ml réactif 2 ml contrôle positif, 2 ml contrôle négatif et 27 x 6 lames jetables.

## Matériel nécessaire non fourni

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

## Prélèvement de l'échantillon

Sérum:

Il faut utiliser du sérum frais prélevé par centrifugation de sang coagulé. Si le test n'est pas effectué le jour même, il peut être conservé durant un maximum de 8 jours après le prélèvement de l'échantillon, à une température de 2-8°C. Pour des périodes plus longues, les échantillons doivent être congelés (-20°C).

Plasma:

Prélever le sang dans un tube contenant un anticoagulant (EDTA). D'autres anticoagulants doivent être contrôlés avant leur emploi. Centrifuger pour séparer le plasma des éléments cellulaires. Analyser l'échantillon dans les 24 heures qui suivent le prélèvement du sang.

Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés ou contaminés.

## DURCHFÜHRUNG

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

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

## QUALITATIVE BESTIMMUNG

- Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen (20 - 30°C).
- Schütteln Sie die Reagenzflasche mit des Reagenz leicht, um die Latex-Partikeln in der Pufferlösung zu zerstreuen und zu suspendieren. Die Reagenzflasche sollte auf keinen Fall kräftig geschüttelt werden.
- 50 µl der Probe (oder einen Tropfen der Kontrolle) auf eines der Objektträgerfelder bringen.
- Reagenzflasche schütteln und 1 Tropfen Latexreagenz neben den Tropfen der Probe geben.
- Beide Tropfen mit einem Holz- oder Plastikstäbchen gut mischen und auf der ganzen Testfeldoberfläche verteilen.
- Objektträger leicht per Hand oder auf dem Rotator (80-100 UPM) während 3 Minuten schwenken.
- Danach Agglutination ablesen.

## Auswertung der Ergebnisse

### POSITIVE ERGEBNISSE:

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

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

### NEGATIVE ERGEBNISSE:

Abwesenheit einer Agglutination, homogene Suspension.

## SEMIQUANTITATIVE BESTIMMUNG

- 50 µl normale Kochsalzlösung auf je eines der Testfelder 1-6 des Objektträgers geben.
- Mit automatischer Pipette 50 µl der Probe auf Testfeld 1 des Objektträgers geben.
- Mit der gleichen Pipette Probe und Salzlösung des Testfeldes 1 mehrmals aufziehen und abgeben, bis eine gute Mischung entsteht.
- 50 µl der Mischung von Testfeld 1 nehmen und auf Testfeld 2 überführen.
- Die beschriebenen Schritte bis Testfeld 6 wiederholen, damit die richtige Mischung entsteht. Nach Testfeld 6 müssen 50 µl der Mischung verworfen werden.
- Jede Verdünnung so bewerten, wie im Kapitel QUALITATIVE BESTIMMUNG beschrieben.

## Auswertung der Ergebnisse

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

## Begrenzung der Methode

- Wie auch bei anderen Untersuchungen zur Diagnose müssen die Ergebnisse unter Berücksichtigung der klinischen, hämatologischen und serologischen Daten des Patienten ausgewertet werden.
- Es besteht die Möglichkeit, dass sich bestimmbare heterophile Antikörpertiter erst verzögert in Patienten mit IM-Symptomatik entwickeln. Falls die Symptome bestehen bleiben, sollte der Versuch nach einigen Tagen wiederholt werden. Einige Patienten, vorzugsweise Kinder und Jugendliche, zeigen durchgehend negative Ergebnisse. Es ist beobachtet worden, dass 80 bis 90% der Erwachsenen und weniger als 50% der Kleinkinder die heterophilen Antikörper entwickeln.

- Falsch positive Ergebnisse sind in Serumproben von Patienten mit zurückliegenden Infektionen durch Cytomegalieviren, Hepatitis-A-Viren, Parvoviren und Leptospiren beobachtet worden.
- Feststellbare Titer heterophiler Antikörper können während längerer Zeit (Monate; bei einigen Personen über Jahre) bestehen bleiben.
- Obwohl die Titer der heterophilen Antikörper in keinem engen Verhältnis zur Schwere der Infektion stehen, kann die semiquantitative Methode zur Verfolgung des Verlaufs der Krankheit verwendet werden.

## Erwartete Werte

Verschiedene Studien (11,12) zur Anwesenheit heterophiler IM-Antikörper in Blutspendern zeigen eine Krankheitsinzidenz von 0,9 bis 1,7% der Bevölkerung. Die Anwesenheit von heterophilen Antikörpern zeigt eine relativ frische Infektion an, was bedeutet, dass die wirkliche Inzidenz der Krankheit viel höher als die Anzahl der diagnostizierten Fälle ist.

## Charakteristika des Tests

Bei Überprüfungen zum Vergleich von **monogen** mit einem auf dem Markt befindlichen Hämagglutinations-Test wurden die Sensitivität und Spezifität des Reagenz ermittelt. Dazu wurden 106 positive und 114 negative Seren zur Untersuchung mit einem Hämagglutinationstest auf Objektträgern verwendet. Die Diskrepanzen zwischen den mit **monogen** erzielten Ergebnissen und dem Hämagglutinationstest wurden durch spezifische serologische Untersuchungen für den Epstein-Barr-Virus (EBV) geklärt.

Bei diesen Tests wurden die Titer der spezifischen Antikörper gegen das Viruskapsidantigen des EBV (sowohl IgG als auch IgM), das (diffuse -D- und das beschränkte -R-) frühe EBV-Antigen und das EBV-Kernantigen bestimmt. Durch die Ergebnisse der genannten Tests wurde festgestellt, ob die Infektion durch EBV neu oder akut war, in welchem Fall das Serum als positiv eingestuft wurde, oder ob keine Antikörper oder Reste einer früheren Infektion vorlagen, in welchem Fall das Serum als negativ eingestuft wurde. Zwölf der 100 positiven, nicht diskrepanten Seren und fünf der 106 negativen, nicht diskrepanten Seren wurden ebenfalls mit Hilfe der spezifischen serologischen EBV-Tests untersucht. In allen Fällen wurde durch den spezifischen EBV-Test der positive bzw. negative Charakter der Proben bestätigt.

Im Vergleich zur Hämagglutination wurde für **monogen** eine Sensitivität von 94% und eine Spezifität von 93% festgestellt. Wenn man davon ausgeht, dass die übereinstimmenden Ergebnisse der EBV-Serologie, die mit den nicht diskrepanten Seren erzielt wurden, auf alle untersuchten Proben anwendbar sind, beträgt die Sensitivität von **monogen** gegenüber dem spezifischen EBV-Test 99% und seine Spezifität 93%. Lediglich ein negatives Ergebnis von **monogen** stellte sich in der EBV-Serologie als positiv heraus. Aufgrund des Fehlens von IgM Anti-Viruskapsidantigen und Antikernantigen wurde festgestellt, dass es sich um eine neue, nicht akute Infektion handelte. Aus diesem Grund kann das negative Ergebnis nicht als Prozone-Effekt interpretiert werden.

In einer separaten Studie wurde **monogen** mit einer qualitativen Probe von roten Blutkörperchen aus Pferdeblut mit einer Gesamtanzahl von 224 EDTA-Plasmaproben verglichen. Dabei zeigte sich eine vollständige Übereinstimmung in den Ergebnissen der Tests, bei denen 51 positive und 173 negative Proben untersucht wurden. Im Allgemeinen zeigen die Ergebnisse der Studie den hohen Grad an Sensitivität und Spezifität von **monogen** zur Diagnose der IM.

Untersucht wurde eine Gruppe von 10 positiven Serumproben an drei aufeinander folgenden Tagen unter Verwendung der semiquantitativen Methode. Die Ergebnisse der Studie weisen für **monogen** eine Präzision von 100% aus. Der Fehler einer wiederholten Schätzung wurde auf eine Doppelverdünnung geschätzt.

## Literatur

Sehen "References" im englischen Text.

---

# monogen

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

**Le monogen aide au diagnostic de la mononucléose infectieuse.**

---

## Sommaire

La mononucléose infectieuse (MI) est une maladie infectieuse grave d'étiologie virale. Les symptômes les plus fréquents sont: fièvre, irritation de la gorge, lymphadénopathie douloureuse, perte d'appétit, malaise, céphalée et myalgie. Elle provoque également chez la majorité des patients une splénomégalie. Elle peut entraîner une éruption maculaire, maculopapulaire ou pétéchiale dans 50% des cas, mais ces éruptions se déclenchent généralement chez les patients traités avec de l'ampicilline.

Parmi les complications de la MI, on trouve la pharyngite bactérienne secondaire, la rupture de la rate, l'anémie hémolytique auto-immune, la thrombocytopenie auto-immune, la myocardite, l'hépatite et l'infection du système nerveux central par méningo-encéphalite ou myélite transverse. Les cas mortels de MI fulminante ou d'hypogammaglobulinémie acquise sont très peu fréquents.

Il est très difficile de diagnostiquer la maladie en se basant uniquement sur le dossier médical et la symptomatologie. De nombreux cas ont été publiés où la MI avait été éronément identifiée comme d'autres maladies bactériennes et virales n'ayant aucun rapport (1). C'est pourquoi les tests hématologiques et sérologiques sont nécessaires pour aider au diagnostic.

En 1932, Paul et Bunnell (2) détectent que les sérums des malades de MI présentent des anticorps hétérophiles contre les érythrocytes de mouton. Il a également été décrit des agglutinines de globules rouges provenant d'autres mammifères (3,4). Les protéines responsables de cette agglutination sont des glycoprotéines provenant de membranes érythrocytaires dénommées antigène de Paul-Bunnell par divers auteurs. Les études réalisées avec ces glycoprotéines démontrent que celles qui ont été obtenues par purification d'érythrocytes bovins sont les plus sensibles aux anticorps hétérophiles de la MI. Les anticorps hétérophiles contre les érythrocytes de mouton (qui sont différents de ceux qui apparaissent durant la MI) peuvent également être détectés dans les sérums de personnes saines, des personnes à qui on a injecté du sérum et d'autres (3,5).

Traditionnellement, les anticorps hétérophiles de la MI ont pu être distingués d'autres de même type par un test d'absorption "différentielle" (6,7) avec des érythrocytes bovins et du tissu rénal de cobayes. Actuellement, l'utilisation d'un antigène Paul-Bunnell purifié et lié à des particules de latex fournit une méthode simple ayant une plus grande sensibilité pour détecter spécifiquement des anticorps hétérophiles associés à la MI.

L'agent étiologique de la MI (8) a été décrit en 1968. Il a été dénommé virus d'Epstein-Barr (EBV), appartenant à la même famille virale que ceux de l'herpès. Par conséquent, diverses techniques utilisant des antigènes liés à l'EBV ont été développées.

La transmission de la MI se produit par le contact salivaire intime, la contamination par salive d'ustensiles de cuisine, verres et plats, et la dissémination par voie aérienne de l'EBV (9).

## Principe

Le réactif **monogen** est une suspension de particules de latex de polystyrène de dimension uniforme sensibilisées avec l'antigène Paul-Bunnell hautement purifié à partir de membranes d'hématies de boeuf. Le degré de pureté de l'antigène est tel que le réactif **monogen** réagit uniquement en présence d'anticorps hétérophiles de MI. C'est la raison pour laquelle les absorptions "différentielles" ne sont pas nécessaires.

Les particules de latex permettent une observation visuelle de la réaction antigène-anticorps. Si l'échantillon contient des anticorps hétérophiles de la MI, la suspension latex modifie son aspect uniforme et une agglutination claire devient évidente.



BIOKIT S.A. 08186 Lliçà d'Amunt (Barcelona) Spain Phone: (34) 93 860 9000 Fax: (34) 93 860 9029 e-mail: biokit@biokit.com	<b>SAFETY DATA SHEET</b>	Date: 10-10-07	Rev.: 01
	Code: 3000-1001 3000-1002		Pag.: 2 of 3

### 9. Physical and chemical properties

**Appearance:**

Latex Reagent: white suspension  
 Positive Control: colourless liquid  
 Negative Control: colourless liquid

**Odour:** Odourless

**Boiling point:** N/A

**Melting point:** N/A

**Flash point:** N/A

**Ignition temperature:** N/A

**Explosion limits:** N/A

**Vapour pressure:** N/A

**Density:** N/A

**Viscosity:** N/A

**Solubility in water:** soluble

### 10. Stability and reactivity

**Conditions and materials to avoid:** N/A

**Hazardous reactions:** N/A

**Hazardous decomposition products:** N/A

### 11. Toxicological information

Data not available.

### 12. Ecological information

Data not available.

### 13. Disposal considerations

Remains of samples, reagents and controls should be collected in a recipient for this purpose and autoclaved 1 hour at 121°C. Observe all Federal, State and local laws.

### 14. Transport information

**Special requirements:** None

### 15. Regulatory information

According to 1999/45/EC Directive and 91/155/EEC Directive and following modifications.

BIOKIT S.A. 08186 Llissà d'Amunt (Barcelona) Spain Phone: (34) 93 860 9000 Fax: (34) 93 860 9029 e-mail: biokit@biokit.com	<b>SAFETY DATA SHEET</b>	Date: 10-10-07	Rev.: 01
	Code: 3000-1001 3000-1002		Pag.: 3 of 3

#### 16. Other information

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

For IN VITRO diagnostic use.

All reagents in this kit contain sodium azide as a preservative. Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion. Use proper disposal procedures.

Each donor unit used in the preparation of the negative control of this kit was tested by an approved method for the presence of the antibodies to HIV and HCV as well as for HBsAg and found to be negative. **WARNING:** Because no test method can offer complete assurance that HIV, HCV, HBsAg or other infectious agents are absent, the controls of this kit should be handled carefully.

The above information is believed to be correct, but does not purpose to be all inclusive and should be used only as a guide. BIOKIT S.A. shall not be held for any damage resulting from handling or use of the product.