

**USO**

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, immunocromatografico, per la determinazione rapida e qualitativa, degli anticorpi eterofili IGM diretti contro il virus di Epstein-Barr (EBV), nel sangue intero, siero o plasma, quale ausilio diagnostico nella diagnosi di mononucleosi infettiva (IM)

**PRINCIPIO DEL METODO**

Si tratta di un immunodosaggio qualitativo su membrana immunocromatografica per la ricerca di anticorpi eterofili in campioni di sangue intero, siero o plasma umani. La procedura analitica utilizza antigene ricombinante immobilizzato in corrispondenza della banda T (linea del test) del supporto di reazione. Dopo l'aggiunta del campione nel relativo pozzetto presente sul supporto, avviene la reazione con l'antigene ricombinante che riveste particelle di oro colloidale in corrispondenza della banda T. La miscela formatasi migra cromatograficamente nella banda T e interagisce con antigeni immobilizzati. La reazione avvenuta può rivelare la presenza di anticorpi diretti contro il virus responsabile della IM qualora presenti nel campione. Se il campione contiene anticorpi anti-IM, appare una banda colorata nella regione del test (T), ad indicare un risultato positivo; in caso di risultato negativo (assenza di anticorpi anti-IM nel campione) non si forma la banda colorata in corrispondenza della linea T. Quale controllo procedurale, una banda colorata deve SEMPRE formarsi in corrispondenza della regione C (linea del controllo), ad indicare la corretta esecuzione dell'intera procedura analitica (corretta aggiunta del campione e funzionamento ottimale del supporto di reazione).

**CONTENUTO DEL KIT**

- Card reattive monouso: supporti di reazione, in sacchetto sigillato
- Tampone di diluizione (buffer)
- Contagocce
- Istruzioni per l'uso

**COMPOSIZIONE**

Il sistema reagentario contiene antigene ricombinante coniugato a particelle di oro colloidale ed antigene ricombinante legato alla membrana immunocromatografica

**PRECAUZIONI**

- Per uso diagnostico *in vitro*. Non utilizzare dopo la data di scadenza
- Ciascuna card deve essere mantenuta nel relativo sacchetto sigillato fino al momento dell'uso
- Non mangiare, bere o fumare nell'area di manipolazione dei reagenti e dei campioni
- Non utilizzare i supporti qualora il relativo sacchetto risulti aperto o danneggiato
• Manipolare tutti i campioni come potenzialmente infetti. Osservare tutte le disposizioni di legge in merito.
- Al termine della procedura analitica eliminare i campioni secondo la normativa di sicurezza in vigore.
- Durante tutte le fasi analitiche indossare indumenti protettivi (camicia), guanti monouso e dispositivi di protezione oculare (DPI)
- La temperatura e l'umidità eccessiva possono inficiare i risultati analitici

**CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI**

Il kit può essere mantenuto in frigorifero o a T. A. (4-30°C.); **non congelare** e non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sul sacchetto sigillato contenente il supporto di reazione.

**MATERIALE AGGIUNTIVO NON FORNITO NEL KIT**

- Provette per prelievo ematico con anticoagulante (EDTA sale potassico o sodico, sodio o litio-eparina, sodio ossalato o sodio citrato)
- Provette per prelievo ematico senza anticoagulante (qualora si utilizzi siero)
- Lancette sterili (solo per sangue del polpastrello)
- Tubi capillari eparinizzati monouso con tettarella
- Centrifuga (per utilizzo di plasma o siero)
- Timer

**RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI**

Può essere utilizzato sangue intero da prelievo, con anticoagulante, o da puntura del polpastrello; è possibile impiegare anche siero o plasma.

**Procedura per utilizzo di sangue intero (puntura del polpastrello):**

- Far lavare le mani al paziente con acqua calda e sapone e pulire la zona da pungere con tampone imbevuto di disinfettante
- Massaggiare la mano evitando di toccare la zona da pungere, sfregando sul palmo della mano verso il polpastrello del dito medio o anulare
- Pungere la pelle del polpastrello con una lancetta sterile; asciugare la prima goccia di sangue.
- Tenendo la mano con il palmo verso l'alto, comprimere il polpastrello dietro al punto di prelievo, facendo formare un'altra goccia.
- Aspirando il sangue con capillare eparinato graduato, caricare quest'ultimo con 40µl circa di campione, evitando la formazione di bolle d'aria.
- Porre una tettarella in gomma sull'apertura superiore del capillare e, comprimendola dispensare il sangue nel pozzetto S della card.

Procedura per utilizzo di siero, plasma o sangue intero da prelievo in provetta

- Separare il siero o il plasma dal coagulo al più presto, per evitare l'emolisi.
- L'analisi dovrebbe essere effettuata immediatamente dopo la preparazione del campione. I campioni non devono essere lasciati a lungo a T.A. Eventualmente, è possibile conservare il siero o il plasma fino a 3 giorni a 2-8°C; per periodi di tempo maggiori, congelare i campioni a -20°C. Il sangue intero da prelievo venoso (con anticoagulante) può essere conservato fino a 2 giorni a 2-8°C (NON CONGELARE I CAMPIONI DI SANGUE INTERO).
- Prima di effettuare la seduta analitica, portare reagenti e campioni a T.A. I campioni congelati devono essere accuratamente risospesi prima del test: evitare scongelamenti-congelamenti ripetuti.
- Qualora i campioni dovessero essere spediti, dovranno essere confezionati secondo le normative vigenti nel Paese, riguardanti il trasporto di materiale potenzialmente infetto.

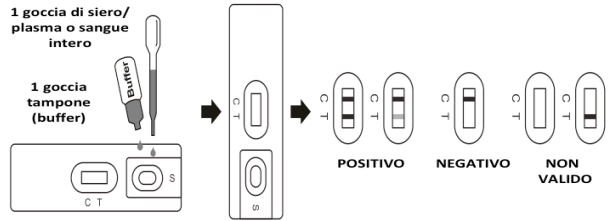


Tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati **POTENZIALMENTE INFETTI** e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.

**PROCEDURA OPERATIVA**

**Portare i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso (15-30°C)**

1. Togliere il supporto di reazione dall'involucro di protezione, tagliando il sacchetto lungo il bordo sigillato e porlo su una superficie piana, avendo cura di identificare ciascun supporto: risultati ottimali si ottengono se il supporto di reazione viene utilizzato entro un'ora dall'apertura.
2. **Campioni di siero o plasma:** tenere il contagocce in posizione verticale e trasferire 1 goccia di campione (circa 40µl) nel pozzetto del campione (S) presente nel supporto di reazione; aggiungere una goccia di tampone di diluizione (circa 40µl) nello stesso pozzetto S e far partire il timer. Vedi lo schema riportato.
3. **Campioni di sangue intero (prelievo ematico):** tenere il contagocce in posizione verticale e trasferire 1 goccia di sangue intero (circa 40µl) nel pozzetto del campione (S) presente nel supporto di reazione; aggiungere una goccia di tampone di diluizione (circa 40µl) nello stesso pozzetto S e far partire il timer. Vedi lo schema riportato.
4. **Campioni di sangue intero (da tubo capillare):** riempire il tubo stesso e trasferire circa 40µl di sangue intero, proveniente da puntura del polpastrello, nel pozzetto del campione (S); aggiungere quindi 1 goccia di tampone di diluizione (circa 40µl) nello stesso pozzetto e far partire il timer. Vedi lo schema riportato.
5. Attendere la formazione della/e linee rosate. Leggere il risultato dopo 5 minuti esatti.
6. Non interpretare mai i risultati dopo 10 minuti.



*Nota:* la velocità di sviluppo della banda colorata può essere influenzata dalla temperatura ambiente: tanto più quest'ultima è elevata, tanto più rapidamente può svilupparsi la colorazione.

**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Facendo riferimento allo schema operativo, si potranno ottenere tre tipi di risultati:

**POSITIVO:** in aggiunta alla banda del controllo (C), si evidenzia in modo netto una banda colorata nella zona di reazione positiva (T). L'intensità della colorazione rossa in questa zona dipende dalla concentrazione di anticorpi eterofili nel campione; comunque, anche la formazione di una debole banda rosata è indicativo di positività del test.

**NEGATIVO:** si sviluppa la banda colorata soltanto nella zona di controllo (C); non appare la banda nella zona di reazione positiva

**NON VALIDO (INDETERMINATO-RIPETERE):** se non si evidenziano distinte bande colorate, sia nella zona del controllo che nella zona di reazione positiva, il test è da considerarsi "non valido"; si raccomanda di ripetere il test.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Il controllo interno della procedura è incluso sempre nel metodo stesso: lo sviluppo di una linea rossa nella regione del controllo (C) rappresenta il controllo procedurale positivo, a conferma di una corretta esecuzione della metodica.

Nel kit non sono compresi controlli di qualità positivo e negativo

Per il Controllo di Qualità Interno (VIQ) ed Esterno (VEQ) fare riferimento alla specifiche applicative del fornitore certificato del materiale.

**LIMITAZIONI DEL METODO**

1. Il presente kit è stato formulato esclusivamente per determinazioni *in vitro*
2. La metodica descritta indica, esclusivamente, la presenza anticorpi eterofili correlati alla mononucleosi infettiva, in campioni di siero, plasma o sangue intero
3. Come tutti i test di laboratorio, l'interpretazione ai fini della diagnosi deve essere supportata da tutte le altre indagini necessarie ed informazioni cliniche
4. Nel caso di risultato negativo, ma persistenza di sintomatologia clinicamente correlabile ad una mononucleosi infettiva è consigliabile un ulteriore approfondimento diagnostico; comunque, un risultato negativo del test non esclude una mononucleosi infettiva in atto

**VALORI ATTESI**

Il presente metodo è stato correlato con kit EIA (immunoenzimatico) certificato regolarmente in commercio ottenendo, quale risultato, una accuratezza complessiva pari al 99.5.

**PRESTAZIONI DEL METODO**

**Sensibilità e Specificità**

*Infective Mononucleosis (Monotest-IM) W/S/P* è stato valutato per correlazione con analogo kit certificato in commercio, utilizzando campioni clinici. I risultati mostrano una sensibilità >99.9% e una specificità del 99.5% relativamente al test EIA commerciale testato.

Metodo	EIA		Risultati Totali
	Positivo	Negativo	
<i>Infective Mononucleosis (Monotest-IM) W/S/P</i>	Positivo	15	16
	Negativo	0	197
Risultati Totali	15	198	213

Sensibilità Relativa: 15/15=>99.9% (95%CI\*: 81.9%~100.0%);

Specificità Relativa: 197/198=99.5% (95%CI\*: 97.2%~100.0%);

Accuratezza: (15+197)/(15+0+1+197)=99.5%(95%CI\*: 97.4%~100.0%).

\*Intervalli di confidenza

**PRECISIONE**

**Intrasaggio**

La precisione intrasaggio è stata determinata utilizzando 15 replicati su 4 distinti campioni: un negativo, un basso positivo, un medio positivo ed un alto positivo. I campioni con risultato, rispettivamente, negativo, basso positivo, medio positivo ed alto positivo sono stati correttamente identificati in misura >99% delle determinazioni.

**Intersaggio**

La precisione intersaggio è stata determinata mediante analisi di 15 sedute analitiche indipendenti sui medesimi 4 campioni utilizzati nel test intrasaggio: un negativo, un basso positivo, un medio positivo ed un alto positivo. Tre distinti lotti di *Infective Mononucleosis (Monotest-IM) W/S/P* sono stati testati, per un periodo di 3 giorni, utilizzando i suddetti campioni. I campioni con risultato, rispettivamente, negativo, basso positivo, medio positivo ed alto positivo sono stati correttamente identificati in misura >99% delle determinazioni.

**CROSS-REATTIVITÀ**

Campioni confermati positivi per HBsAg, HBeAg, HBeAb, HBeAb, anticorpi anti-T.pallidum (sifilide), anti-HIV, anti-H.pylori, anti-CMV, anti-Rubella, anti-HSV, anti-TB e anti-Toxoplasmosi sono stati testati con *Infective Mononucleosis (Monotest-IM) W/S/P*. Non è stata osservata cross-reattività (reattività crociata, fenomeno di interferenza analitica) indicando che *Infective Mononucleosis (Monotest-IM)* possiede un elevato grado di specificità per la determinazione di anticorpi umani diretti contro EBV (mononucleosi infettiva)

**SOSTANZE POTENZIALMENTE INTERFERENTI**

Le seguenti sostanze sono state aggiunte a campioni negativi and positivi per IM.

Albumina: 20mg/mL      Bilirubina: 10mg/dL      Trigliceridi: 2mg/mL

Nessuna delle suddette sostanze, alla concentrazione riportata, ha interferito con il test.

**CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE**












La mononucleosi infettiva<sup>1,2</sup> (IM, conosciuta anche come mononucleosi, febbre ghiandolare, malattia di Pfeiffer, malattia di Filatov e, spesso semplicemente come "virus del bacio", in quanto trasmissibile con la saliva) è una patologia acuta, assai diffusa, causata dal virus di Epstein-Barr (EBV), appartenente alla famiglia degli herpes-virus<sup>3</sup>. Oltre il 90% della popolazione adulta umana risulta immune (per sieroconversione ) dopo i 40 anni di età. Molti individui sono esposti alla patologia da EBV come, ad esempio, i bambini nei quali

l'infezione provoca una lieve sintomatologia simil-influenzale. Nei Paesi in via di sviluppo le persone sono esposte al virus prevalentemente nella prima infanzia, in misura maggiore rispetto ai Paesi sviluppati: come risultato la patologia da EBV (IM), nella forma sintomatica, è più diffusa in questi ultimi Paesi dove è maggiormente osservabile negli adolescenti e nei giovani adulti che sviluppano una patologia caratterizzata da febbre, infiammazione della gola e spossatezza, unita ad alcuni altri segni e sintomi. L'infezione da EBV viene principalmente diagnosticata in base alla sintomatologia ed il sospetto iniziale può essere confermato da tests diagnostici: si tratta comunque di una patologia auto-limitante e, di norma, si rende necessario solo un piccolo trattamento clinico.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Cozad J (March 1996). "Infectious mononucleosis". The Nurse Practitioner 21 (3): 14-6, 23, 27-8.
2. Hoagland RJ (June 1975). "Infectious mononucleosis". Primary care 2 (2): 295-307.
3. Bravender, T (August 2010). "Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and infectious mononucleosis". Adolescent medicine: state of the art reviews 21 (2): 251-64.
4. Schonbeck, John and Frey, Rebecca. The Gale Encyclopedia of Medicine. Vol. 2. 4th ed. Detroit: Gale, 2011. Online.
5. Odumade, OA; Hogquist, KA; Balfour HH, Jr (January 2011). "Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections". Clinical Microbiology Reviews 24 (1): 193-209.

**Indice dei Simboli**

	Attenzione, seguire le istruzioni per l'uso		Tests per kit		Rappresentante Autorizzato
	Per uso esclusivo "in vitro"		Utilizzare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero di Lotto		N. Catalogo #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				Rischio Biologico

Codici di Riordino:

C7321 Infective Mononucleosis (Monotest-IM) W/S/P

20 test



Bio Plastic Sas - 00100 Roma