



**INTENDED USE**

The Microgen I.M. Kit is intended for in vitro detection of heterophile antibodies associated with infectious mononucleosis in human serum or plasma samples. The product is intended for professional use only.

**PRINCIPLE OF THE TEST**

The test is based upon the differential absorption test developed by Davidsohn<sup>1</sup> in which horse erythrocytes are agglutinated by heterophile antibodies<sup>2</sup> associated with infectious mononucleosis. Heterophile antibodies to Forssman antigens, which can cause false positive reactions, are absorbed by guinea pig kidney antigen but not by bovine red cell antigen whereas heterophile antibodies to I.M. are absorbed by bovine red cells but not by guinea pig kidney antigen<sup>1,3</sup>. Two samples of the patient's serum or plasma<sup>4</sup> are absorbed with either guinea pig kidney antigen or ox cell antigen on a test slide. Horse red cells are then added and the mixture examined for agglutination. Agglutination in the presence of guinea pig antigen but not with ox cell antigen is indicative of the presence of heterophile antibodies associated with I.M. Other patterns of agglutination are indicative of non-specific reactions and are regarded as negative for I.M.

<b>CONT</b>		<b>KIT PRESENTATION</b>	
<b>Ag</b>	<b>GPK</b>	M121a	2mL

Guinea Pig Kidney Antigen suspended in a solution containing protein stabiliser and 0.5% phenol as preservative. (Yellow dropper)

<b>Ag</b>	<b>OX</b>	M121b	2mL
-----------	-----------	-------	-----

Ox Cell Antigen suspended in a solution containing protein stabiliser and 0.5% phenol as preservative. (White dropper)

<b>REAG</b>	<b>TEST</b>	M121c	4mL
-------------	-------------	-------	-----

Horse Cell Reagent - horse erythrocytes suspended in a stabilising solution containing 0.099% sodium azide as preservative. (Blue dropper)

<b>CONTROL</b>	<b>+</b>	M121d	2mL
----------------	----------	-------	-----

Positive Control - I.M. positive human serum diluted in a solution containing protein stabiliser and 0.099% sodium azide as preservative. (Black dropper)

Test Slide  
Instructions for Use

**Materials and Equipment required but not provided**

- Pipette with disposable tips to deliver 25µL
- Timer
- Mixing sticks (plastic or wood)
- 70% isopropyl alcohol
- Absorbent paper tissues
- Latex gloves, safety glasses and other appropriate protective garments
- Biohazardous waste containers

**WARNINGS AND PRECAUTIONS**

**Safety**

1. The reagents in this kit are for *in vitro* diagnostic use only.
2. All human blood products should be treated as potentially infectious. The material from which the kit control serum was derived was found negative for antibodies to HIV-1 and HIV-2, HbsAg and HCV when tested. However no known test methods can offer complete assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents.
3. The ox cell antigen is produced from calf blood from animals declared fit for human consumption, and blood components are regarded as having no detectable infectivity for transmissible spongiform encephalopathy agents. Nevertheless, this reagent should be handled as though potentially infectious.
4. The kit components are preserved with either phenol or sodium azide. Although the concentrations are low, take appropriate precautions when handling these reagents. Additionally, sodium azide may react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. Dispose by flushing with a large volume of water to prevent azide build up.
5. Avoid contact of reagents with skin or mucous membranes. If this happens, wash with copious amounts of water.
6. Waste reagents and materials should be decontaminated and discarded according to national guidelines. Decontamination of infectious material can be achieved with sodium hypochlorite at a final concentration of 3% for 30minutes. Liquid waste containing acid must be neutralised before treatment.
7. The test slide should be cleaned thoroughly between samples using 70% isopropanol.

**Procedural**

1. The kit should be used in accordance with these Instructions for Use.
2. Use within expiry date marked on the kit.
3. Ensure that all reagents have reached room temperature (18-25°C) before use.
4. Do not mix reagents from different batches.
5. Do not cross-contaminate reagents.
6. The horse cell reagent should always be a dark red colour. Do not use if there is any evidence of cell lysis.
7. Always run the positive control to confirm that the test system is functioning correctly. The positive control has been diluted so that it will only give a weak reaction. Should the kit be incorrectly stored or used beyond its expiry date, the control may give a negative reaction. Under such circumstances, the reagents should be discarded and a fresh kit used.

**STORAGE AND SHELF LIFE**

**Kit components:**

All unopened components can be used until the date printed on the outer carton label provided they are stored at 2-8°C. Once opened, reagents can be used repeatedly during the stated shelf life of the kit provided that they are stored at 2-8°C and that reasonable precautions are taken to avoid high levels of microbial contamination.

**Specimens:**

Non-haemolysed serum or plasma can be used. Inactivated serum is also suitable. Separated samples should be stored at 2-8°C and tested within 2-3 days if possible. If longer-term storage is necessary, specimens should be frozen at -20°C or below. Specimens that have been frozen and then thawed should be thoroughly mixed before testing.

## TEST PROCEDURE

1. Ensure that all reagents are at room temperature (18-25°C) and mixed thoroughly.
2. Carry out the following procedure on the white glass test slide provided. Always run the positive control to confirm the test system is functioning correctly.

Oval A	Oval B
Dispense 25µL patient's sample or positive control.	Dispense 25µL patient's sample or positive control.
Add 1 drop guinea pig kidney antigen (Yellow dropper)	Add 1 drop ox cell antigen (White dropper)
Mix and allow to stand for 30 seconds	Mix and allow to stand for 30 seconds
Add 1 drop horse cell reagent (Blue dropper)	Add 1 drop horse cell reagent (Blue dropper)
Mix and rock slide gently for 1 minute	Mix and rock slide gently for 1 minute

3. Examine for agglutination at **1 minute**.

## INTERPRETATION

1. A **positive** result is indicated by distinct agglutination in test oval A (guinea pig antigen absorption) with no significant agglutination in test oval B (ox cell absorption). This is a true **differential absorption** as demonstrated by the positive control.
2. The result is **negative** when there is no discernible agglutination in either test oval A or B.
3. Any sample which does not present a clear result as defined above should be diluted 1:5 in 0.85% sodium chloride solution and the test repeated. Criteria 1 and 2 above should be applied to the repeat test result.
4. The positive control (tested undiluted) should give a weak positive reaction in Oval A with no appreciable agglutination in Oval B. If no agglutination is seen in Oval A, the test is invalid as the reagents have probably deteriorated.
5. The test is invalid if any result other than those defined in 1-4 above is obtained.

## LIMITATIONS OF USE

1. Results from the Microgen I.M. Kit should always be interpreted in the context of all available clinical and laboratory data.
2. If the blood film picture does not agree with the Microgen I.M. Kit results, the test should be repeated on a fresh sample drawn one week later. Testing for evidence of EB virus may also aid diagnosis.
3. There are some non-EBV associated pathological conditions which can produce false positive results in haemagglutination tests of this type. These include some other viral infections and lymphomatous conditions.
4. The use of EDTA plasmas, rather than serum, can also be associated with a higher incidence of potentially misleading results. However, careful observance of the interpretation instructions above will minimise erroneous conclusions.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Microgen I.M. Kit has been independently evaluated in two leading microbiology laboratories in the United Kingdom.

### Laboratory 1

As part of an evaluation of 14 commercial test kits, 232 plasma and sera were tested by the Microgen I.M. Kit in parallel with a reference system comprising an immunofluorescent assay for IgM antibodies to EBV viral capsid antigen, backed up by hematology profile.

Table 1: Comparison of Microgen I.M. Kit with reference IFA

Reference Methods	Microgen I.M. Kit		Total
	Positive	Negative	
	73	0	73
	6	153	159
Total	79	153	232

Sensitivity 100%  
Specificity 96.2%  
Accuracy 97.4%

Six false positive results were seen:

- a) 2 specimens were from patients who presented as suspected I.M. but reference methods (IFA, blood film and blood counts) were negative.
- b) 1 patient presented with lymphadenopathy
- c) 1 patient presented with chronic fatigue
- d) 2 samples gave very weak agglutination. No clinical symptoms were available although the samples had been sent by the G.P. for I.M. screening.

## Laboratory 2

As part of an evaluation of 6 commercially available test kits, 40 plasma specimens received by the laboratory for routine Full Blood Count and I.M. screening were tested by the Microgen I.M. Kit. A well-established and respected commercial assay was used as the reference procedure in conjunction with microscopic examination of blood films for the presence of atypical lymphocytes, a characteristic of infectious mononucleosis.

Table 2: Comparison of Microgen I.M. Kit with reference assay

Reference Assay	Microgen I.M. Kit		Total
	Positive	Negative	
	24	0	24
	0	16	16
Total	24	16	40

Sensitivity 100%  
Specificity 100%  
Accuracy 100%

In this trial no discrepant results were obtained.

## REPRODUCIBILITY

**Intra-batch reproducibility** – This has been evaluated by testing one batch of kits on 3 different occasions using 2 operators. On each occasion the sensitivity of the kit was tested with serial dilutions of standard reference and kit control sera. No difference in end-point titres were seen between different operators/different test occasions

**Inter-batch reproducibility** – Comparison of the QC release data for 30 batches of I.M. Kit has shown that there is only marginal variation of sensitivity between batches (maximum 1 doubling dilution of reference positive serum). Inter-batch reproducibility of specificity was confirmed by testing 3 batches of kits with a panel of 15 randomly selected plasma specimens. Identical results were obtained with all batches.

E

## INDICACIONES DE USO

El kit Microgen I.M. (mononucleosis infecciosa) está indicado para la detección *in vitro* de anticuerpos heterófilos asociados a la mononucleosis infecciosa en muestras de suero o plasma humano. Producto para uso únicamente por profesionales.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

Esta prueba se basa en la prueba de absorción diferencial desarrollada por Davidsohn<sup>1</sup>, en la que los hematíes de caballo son aglutinados por anticuerpos heterófilos<sup>2</sup> asociados a la mononucleosis infecciosa. Los anticuerpos heterófilos dirigidos contra los antígenos de Forssman, que pueden causar reacciones falsas positivas, son absorbidos por los antígenos de riñón de cobayo pero no por los antígenos de los hematíes bovinos, mientras que los

anticuerpos heterófilos dirigidos contra la mononucleosis infecciosa son absorbidos por hematíes bovinos pero no por los antígenos de riñón de cobayo<sup>1,3</sup>. Dos muestras de suero o plasma del paciente<sup>4</sup> son absorbidas con antígeno de riñón de cobayo o con antígeno de células de buey en un portaobjeto. A continuación, se añaden hematíes de caballo y se observa la aglutinación en la mezcla. La aglutinación en presencia de antígeno de cobayo pero no con el antígeno de células de buey indica la presencia de anticuerpos heterófilos asociados a la mononucleosis infecciosa. Otras pautas de aglutinaciones indican reacciones inespecíficas y se consideran negativas a la mononucleosis infecciosa.

<b>CONT</b>	<b>PRESENTACIÓN DEL KIT</b>
-------------	-----------------------------

<b>Aa</b>	<b>GPK</b>	M121a	2mL
-----------	------------	-------	-----

Antígeno de riñón de cobayo suspendido en una solución que contiene estabilizador de proteínas y fenol al 0,5% como conservante. (Cuentagotas amarillo)

<b>Ag</b>	<b>OX</b>	M121b	2 ml
-----------	-----------	-------	------

Antígeno de células buey suspendido en una solución que contiene estabilizador de proteínas y fenol al 0,5% como conservante. (Cuentagotas blanco)

<b>REAG</b>	<b>TEST</b>	M121c	4 ml
-------------	-------------	-------	------

Reactivo de células de caballo: hematíes de caballo suspendidos en una solución estabilizadora que contiene azida sódica al 0,099% como conservante. (Cuentagotas azul)

<b>CONTROL</b>	<b>+</b>	M121d	2mL
----------------	----------	-------	-----

Control positivo: suero humano positivo a la mononucleosis infecciosa, diluido en una solución que contiene estabilizador de proteínas y azida sódica al 0,099% como conservante. (Cuentagotas negro)

Portaobjeto  
Instrucciones de uso

**Materiales y equipo necesarios pero que no se suministran**

- Pipeta con puntas desechables para administrar 25 µl
- Temporizador
- Varillas para mezclar (de plástico o madera)
- Alcohol isopropílico al 70%
- Papel absorbente
- Guantes de látex, gafas de seguridad y otras prendas de protección adecuadas
- Recipientes para residuos biopeligrosos

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

**Seguridad**

1. Los reactivos de este kit son para uso *in vitro* únicamente.
2. Todos los productos sanguíneos humanos deberán tratarse como potencialmente infecciosos. El análisis del material a partir del cual se obtuvo el suero de control del kit reveló ser negativo a los anticuerpos contra el VIH-1, VIH-2, HBsAg y VHC. Sin embargo, ningún método de análisis conocido puede ofrecer la seguridad completa de que los productos obtenidos a partir de sangre humana no transmitan agentes infecciosos.
3. El antígeno de células de buey se produce a partir de la sangre de ternera, de animales declarados aptos para el consumo humano, y se considera que los componentes sanguíneos carecen de infectividad detectable por agentes transmisibles de

4. la encefalopatía espongiiforme. No obstante, este reactivo deberá ser manipulado como si fuera potencialmente infeccioso.
4. Los componentes del kit se conservan en fenol o en azida sódica. Aunque las concentraciones son bajas, deben tomarse las precauciones adecuadas al manipular estos reactivos. Además, la azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y de cobre, formando azidas metálicas explosivas. Debe desecharse lavando con abundante agua para evitar la acumulación de azidas.
5. Evítese el contacto de los reactivos con la piel o con las membranas mucosas. Si ello ocurriera, lavar con abundante agua.
6. Los reactivos y los materiales de desecho deberán descontaminarse y desecharse de conformidad con las normativas locales. La descontaminación del material infeccioso puede obtenerse con hipoclorito sódico a una concentración final del 3%, durante 30 minutos. Los desechos líquidos que contienen ácidos deben neutralizarse antes de su tratamiento.
7. El portaobjeto deberá limpiarse a conciencia con isopropanol al 70% entre una muestra y la siguiente.

**Notas referentes al procedimiento**

1. El kit deberá utilizarse de conformidad con estas instrucciones de uso.
2. Usar antes de la fecha de caducidad marcada en el kit.
3. Asegurarse de que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiental (18 a 25 °C) antes de su uso.
4. No mezclar reactivos de lotes diferentes.
5. Debe evitarse la contaminación cruzada de los reactivos.
6. El reactivo de células de caballo deberá estar siempre de color rojo oscuro. No usar si existe algún indicio de lisis celular.
7. Procesar siempre el control positivo para confirmar que el sistema de ensayo funcione correctamente. El control positivo ha sido diluido de manera que sólo proporcione una reacción débil. En caso de almacenamiento incorrecto del kit o de su uso después de la fecha de caducidad, el control puede dar una reacción negativa. En este caso, los reactivos deberán desecharse y se deberá utilizar un kit nuevo.

**ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL**

**Componentes del kit:**

Todos los componentes sin abrir pueden utilizarse hasta la fecha impresa en la etiqueta del envase exterior, siempre que se mantengan a una temperatura de 2 a 8 °C. Una vez abiertos, los reactivos pueden utilizarse de manera repetida durante la vida útil declarada del kit, siempre que se mantengan a una temperatura de 2 a 8 °C y que se toman las precauciones razonables para evitar una cantidad elevada de contaminación microbiana.

**Muestras:**

Puede utilizarse suero o plasma no hemolizado. También es adecuado el suero inactivado. Las muestras separadas deberán conservarse a una temperatura de 2 a 8 °C y deberán examinarse, si es posible, en un período no mayor de dos a tres días. Si se requiere un período de conservación más prolongado, las muestras deberán congelarse a una temperatura de -20 °C o menos. Las muestras que se hayan congelado y después descongelado, deberán mezclarse a conciencia antes de su análisis.

**PROCEDIMIENTO DE ENSAYO**

1. Asegurarse de que todos los reactivos estén a temperatura ambiente (18 a 25 °C) y mezclados a conciencia.
2. Llevar a cabo el siguiente procedimiento en el portaobjeto de vidrio blanco suministrado. Procesar siempre el control positivo para confirmar que el sistema de ensayo funcione correctamente.

Óvalo A	Óvalo B
Dispensar 25 µl de muestra del paciente o control positivo.	Dispensar 25 µl de muestra del paciente o control positivo.
Añadir una gota de antígeno de riñón de cobayo (cuentagotas amarillo).	Añadir una gota de antígeno de células de buey. (cuentagotas blanco)

Mezclar y dejar en reposo durante 30 segundos.	Mezclar y dejar en reposo durante 30 segundos.
Añadir una gota de reactivo de células de caballo (cuentagotas azul).	Añadir una gota de reactivo de células de caballo (cuentagotas azul).
Mezclar y mecer el portaobjeto suavemente durante un minuto.	Mezclar y mecer el portaobjeto suavemente durante un minuto.

3. Examinar la presencia de aglutinación a **un minuto**.

### INTERPRETACIÓN

- Un resultado **positivo** está indicado por una aglutinación diferenciada en el óvalo de ensayo A (absorción del antígeno de cobayo), sin una aglutinación significativa en el óvalo de ensayo B (absorción de células de buéy). Ésta es una **absorción diferencial** verdadera, demostrada por el control positivo.
- El resultado es **negativo** cuando no existe una aglutinación discernible en el óvalo de ensayo A o B.
- Si una muestra no presenta un resultado claro, según lo definido arriba, deberá diluirse a 1:5 en solución de cloruro sódico al 0,85% y la prueba deberá repetirse. Los criterios 1 y 2 deberán aplicarse al resultado repetido de la prueba.
- El control positivo (examinado no diluido) deberá dar una reacción débilmente positiva en el óvalo A, sin una aglutinación apreciable en el óvalo B. Si no se observa ninguna aglutinación en el óvalo A, la prueba se considera no válida, puesto que probablemente los reactivos se han deteriorado.
- La prueba se considera no válida si se obtiene algún resultado distinto a los definidos en los pasos 1 a 4.

### LIMITACIONES DEL USO

- Los resultados del kit de mononucleosis infecciosa Microgen deberán interpretarse siempre en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio disponibles.
- Si la figura del extendido de sangre no concuerda con los resultados del kit de mononucleosis infecciosa Microgen, la prueba deberá repetirse en una muestra nueva, extraída una semana después. El análisis de indicios del virus de Epstein-Barr también puede ser de utilidad para el diagnóstico.
- Existen algunas patologías no asociadas al virus de Epstein-Barr que pueden dar resultados falsos positivos en las pruebas de hemaglutinación de este tipo. Entre ellas, se cuentan algunas otras infecciones víricas y patologías linfomatosas.
- Asimismo, el empleo de plasmas con EDTA, en lugar de suero, puede asociarse a una mayor incidencia de resultados potencialmente confusos. Sin embargo, la observancia cuidadosa de las instrucciones de interpretación mencionadas reducirá al mínimo las conclusiones erróneas.

### CARACTERÍSTICAS DE LA EJECUCIÓN

El kit de mononucleosis infecciosa Microgen se ha evaluado de manera independiente en dos de los principales laboratorios de microbiología del Reino Unido.

#### Laboratorio 1

Como parte de una evaluación de 14 kits de ensayo comerciales, se analizaron 232 muestras de suero y plasma mediante el kit de mononucleosis infecciosa Microgen, de forma paralela a un sistema de referencia que comprende un análisis de inmunofluorescencia para anticuerpos IgM contra el antígeno de la cápsida del virus de Epstein-Barr, respaldado por un perfil de hematología.

Tabla 1: Comparación del kit de mononucleosis infecciosa Microgen con el IFA de referencia

		Kit de mononucleosis infecciosa Microgen		
		Positivos	Negativos	Total
Métodos de referencia	Positivos	73	0	73
	Negativos	6	153	159
	Total	79	153	232
		Sensibilidad		100%
		Especificidad		96.2%
		Exactitud		97.4%

Se encontraron seis resultados falsos positivos:

- Dos muestras pertenecían a pacientes que presentaban una mononucleosis infecciosa sospechosa, pero los métodos de referencia (IFA; extendido de sangre y recuentos sanguíneos) fueron negativos.
- Un paciente presentó linfadenopatía.
- Un paciente presentó fatiga crónica.
- Dos muestras dieron una aglutinación muy débil. No se contó con ningún síntoma clínico, aunque las muestras habían sido enviadas por el médico de cabecera para la detección de mononucleosis infecciosa.

### Laboratorio 2

Como parte de una evaluación de seis kits de análisis comerciales, 40 muestras de plasma recibidas por el laboratorio para efectuar unos recuentos sanguíneos completos de rutina y pruebas de detección de mononucleosis infecciosa fueron analizadas con el kit de mononucleosis infecciosa Microgen. Se utilizó un análisis comercial bien establecido y respetado como procedimiento de referencia, además del examen microscópico de extendidos de sangre para determinar la presencia de linfocitos atípicos, que son característicos de la mononucleosis infecciosa.

Tabla 2: Comparación del kit de mononucleosis infecciosa Microgen con el análisis de referencia

		Kit de mononucleosis infecciosa Microgen		
		Positivos	Negativos	Total
Análisis de referencia	Positivos	24	0	24
	Negativos	0	16	16
	Total	24	16	40
		Sensibilidad		100%
		Especificidad		100%
		Exactitud		100%

En este análisis no se obtuvo ningún resultado discrepante.

### REPRODUCIBILIDAD

**Reproducibilidad intralotes:** Se ha evaluado mediante el análisis de un lote de kits en tres ocasiones diferentes y por dos operadores distintos. En cada ocasión, se examinó la sensibilidad del kit con diluciones seriadas de un patrón de referencia y sueros de control del kit. No se observó ninguna diferencia en los títulos.

**Reproducibilidad entre lotes:** La comparación de los datos de liberación de control de calidad correspondientes a 30 lotes del kit de mononucleosis infecciosa ha mostrado que sólo existe una variación mínima en la sensibilidad entre los lotes (máximo de 1 dilución al doble del suero positivo de referencia). Se confirmó la reproducibilidad de la especificidad entre lotes mediante el análisis de tres lotes de kits con una serie de 15 muestras de plasma seleccionadas al azar. Se obtuvieron unos resultados idénticos con todos los lotes.



### ZWECKBESTIMMUNG

Das Microgen I.M.-Kit ist zum In-vitro-Nachweis von heterophilen Antikörpern bei infektiöser Mononukleose in humanem Serum oder Plasmaproben bestimmt. Das Produkt sollte nur von fachmännischem Personal verwendet werden.

## TESTPRINZIP

Der Test basiert auf dem Differentialabsorptionstest nach Davidsohn<sup>1</sup>, in dem Pferde-Erys mit heterophilen Antikörpern bei infektiöser Mononukleose agglutinieren. Heterophile Antikörper bei Forssman-Antigenen, die falsch-positive Reaktionen hervorrufen können, werden durch Meerschweinchen-Niere-Antigen, aber nicht durch Rinder-Ery-Antigene absorbiert, wohingegen heterophile Antikörper bei I.M. durch Rinder-Erys, aber nicht durch Meerschweinchen-Niere-Antigen absorbiert werden<sup>1,3</sup>. Zwei Serum- oder Plasmaproben<sup>4</sup> des Patienten werden entweder mit Meerschweinchen-Niere-Antigen oder Rinder-Ery-Antigen auf einem Testobjektträger absorbiert. Es werden dann Pferde-Erys hinzugegeben und die Mischung auf Agglutination hin überprüft. Agglutination in Gegenwart von Meerschweinchen-Antigen, aber ohne Rinder-Ery-Antigen deutet auf das Vorhandensein heterophiler Antikörper bei I.M. hin. Andere Agglutinationsmuster deuten auf nicht-spezifische Reaktionen hin und werden als negativ in bezug auf I.M. betrachtet.

CONT	<b>INHALT DES KITS</b>
------	------------------------

Ag	GPK	M121a	2mL
----	-----	-------	-----

Meerschweinchen-Niere-Antigen-Suspension in einer Lösung mit Proteinstabilisator und 0,5 % Phenol als Konservierungsmittel. (Gelbe Tropfenflasche)

Ag	OX	M121b	2mL
----	----	-------	-----

Rinder-Ery-Suspension in einer Lösung mit Proteinstabilisator und 0,5 % Phenol als Konservierungsmittel. (Weiße Tropfenflasche)

REAG	TEST	M121c	4mL
------	------	-------	-----

Pferdezell-Reagens - Pferde-Ery-Suspension in einer stabilisierenden Lösung mit 0,099 % Natriumazid als Konservierungsmittel. (Blaue Tropfenflasche)

CONTROL	+	M121d	2mL
---------	---	-------	-----

Positivkontrolle - I.M.-positives humanes Serum verdünnt in einer Lösung mit Proteinstabilisator und 0,099 % Natriumazid als Konservierungsmittel. (Schwarze Tropfenflasche)

Testobjektträger  
Gebrauchsanweisung.

### Zusätzlich benötigte, nicht enthaltene Materialien und Ausrüstung

- Pipette mit Einwegaufsätzen für 25 µL.
- Zeitschaltuhr
- Rührstäbchen (Plastik oder Holz)
- 70 %iger Isopropylalkohol
- Saugfähige Papiertücher.
- Latex-Handschuhe, Schutzbrillen und andere benötigte Schutzbekleidung
- Abfallcontainer für biologische Abfälle

### WARNHINWEISE UND SICHERHEITSVORKEHRUNGEN

#### Sicherheit

1. Die Reagenzien in diesem Kit sind nur zur *In-vitro*-Diagnostik.
2. Alle humanen Blutprodukte sollten als potenziell infektiös behandelt werden. Das Material, aus dem das enthaltene Kontrollserum entstammte, war bei durchgeführten Tests für HIV-1- und HIV-2-, HbsAg- und HCV-Antikörper negativ. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit bieten, dass humane Blutprodukte keine infektiösen Bestandteile enthalten.

3. Das Rinder-Ery-Antigen aus Kälberblut stammte von Tieren, die für den menschlichen Verzehr als geeignet deklariert wurden. Die Blutbestandteile wiesen keine nachweisbare Ansteckungsgefahr für übertragbare spongiforme Enzephalopathie auf. Trotzdem sollte dieses Produkt als potenziell infektiös behandelt werden.
4. Die Bestandteile des Kits sind entweder mit Phenol oder Natriumazid konserviert. Obwohl die Konzentrationen niedrig sind, sollten angemessene Sicherheitsvorkehrungen beim Umgang mit diesen Reagenzien getroffen werden. Außerdem kann Natriumazid mit in Abflussinstallationen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Anreicherung von explosiven Metallaziden führen. Bei Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen, um eine Anreicherung des Azids zu vermeiden.
5. Haut- oder Schleimhautkontakt vermeiden. Bei Berührung mit reichlich Wasser ausspülen.
6. Abfälle wie Reagenzien oder Proben sollten gemäß nationaler Richtlinien dekontaminiert und entsorgt werden. Die Dekontamination infektiösen Materials kann mit Natriumhypochlorit bei einer Endkonzentration von 3 % über 30 Minuten erfolgen. Flüssige säurehaltige Abfallstoffe müssen vor der Behandlung neutralisiert werden.
7. Der Testobjektträger sollte zwischen den einzelnen Proben mit 70 %igem Isopropylalkohol gründlich gereinigt werden.

### Anwendung

1. Das Kit sollte gemäß dieser Gebrauchsanweisung benutzt werden.
2. Innerhalb des angegebenen Ablaufdatums verwenden.
3. Vergewissern Sie sich, dass alle Reagenzien vor der Verwendung Raumtemperatur (18 - 25°C) haben.
4. Reagenzien verschiedener Chargen sollten nicht miteinander vermischt werden.
5. Die Reagenzien sollten nicht kreuzkontaminiert werden.
6. Das Pferdezell-Reagens sollte immer eine dunkelrote Farbe haben. Bei Verdacht auf Zellyse nicht verwenden.
7. Um sicherzustellen, dass das Testsystem korrekt funktioniert, sollte immer eine Positivkontrolle durchgeführt werden. Die Positivkontrolle ist so verdünnt, dass sie nur schwach reagiert. Bei unsachgemäßer Aufbewahrung oder Verwendung nach Ablaufdatum kann es zu einer negativen Reaktion kommen. Unter diesen Umständen sollten die Reagenzien entsorgt und ein neues Kit verwendet werden.

### AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

#### Kit-Bestandteile:

Alle ungeöffneten Bestandteile können bei Lagerung zwischen 2-8°C bis zum aufgedruckten Datum auf der Außenverpackung verwendet werden. Geöffnete Reagenzien können während der genannten Haltbarkeit des Kits, bei Lagerung zwischen 2-8°C und Sicherheitsvorkehrungen zur Vermeidung hochgradiger mikrobieller Kontaminationen, wiederholt verwendet werden.

#### Proben:

Verwendung von nicht-hämolyisiertem Serum oder Plasma, wobei auch inaktiviertes Serum verwendet werden kann. Die getrennten Proben sollten bei 2-8°C aufbewahrt und nach Möglichkeit innerhalb von 2-3 Tagen getestet werden. Falls eine längerfristige Aufbewahrung notwendig ist, sollten die Proben bei -20°C oder darunter eingefroren werden. Eingefrorene Proben, die aufgetaut wurden, sollten vor der Testung gründlich durchgemischt werden.

### TESTVERFAHREN

1. Vergewissern Sie sich, dass alle Reagenzien vor der Verwendung Raumtemperatur (18-25°C) haben und gründlich durchgemischt wurden..
2. Das folgende Verfahren sollte auf dem mitgelieferten weißen Glasobjektträger erfolgen. Um sicherzustellen, dass das Testsystem korrekt funktioniert, immer eine Positivkontrolle durchführen.

Vertiefung A	Vertiefung B
Aufbringen von 25 µL Patientenprobe oder Positivkontrolle	Aufbringen von 25 µL Patientenprobe oder Positivkontrolle
1 Tr. Meerschwein-Niere-Antigen zugeben (gelbe Tr.-Flasche)	1 Tr. Rinder-Ery-Antigen zugeben (weiße Tr.-Flasche)
Durchmischen und 30 Sek. warten	Durchmischen und 30 Sek. warten
1 Tr. Pferde-Ery-Reagenz zugeben (blaue Tr.-Flasche)	1 Tr. Pferde-Ery-Reagenz zugeben (blaue Tr.-Flasche)
Durchmischen und 1 Min. vorsichtig schwenken	Durchmischen und 1 Min. vorsichtig schwenken

3. Nach **1 Minute** auf Agglutination hin überprüfen.

## INTERPRETATION

- Ein **positives** Ergebnis wird durch eine deutliche Agglutination in Vertiefung A (Meerschweinchen-Niere-Antigen-Absorption) und keiner signifikanten Agglutination in Vertiefung B (Rinder-Ery-Absorption) angezeigt. Es handelt sich hierbei um eine echte **Differentialabsorption**, wie bereits durch die Positivkontrolle gezeigt.
- Das Ergebnis ist **negativ**, wenn es zu keiner erkennbaren Agglutination in Vertiefung A oder B gekommen ist.
- Alle Proben, die kein eindeutiges Ergebnis wie oben beschrieben zeigen, sollten 1:5 in 0,85 %iger Natriumchloridlösung verdünnt und der Test wiederholt werden. Das Wiederholungsergebnis sollte gemäß o.g. Kriterien 1 und 2 überprüft werden.
- Die Positivkontrolle (unverdünnt getestet) sollte eine schwach-positive Reaktion in Vertiefung A und keine nennenswerte Agglutination in Vertiefung B aufweisen. Falls in Vertiefung A keine Agglutination auftritt ist der Test ungültig, da die Reagenzien vermutlich verdorben sind.
- Der Test ist auch dann ungültig, wenn keines der in 1-4 genannten Ergebnisse auftritt.

## ANWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

- Die Ergebnisse des Microgen I.M.-Kits sollten immer im Kontext aller vorhandenen klinischen und Laborparameter interpretiert werden.
- Entspricht das Ergebnis des Blutausriches nicht dem des Microgen I.M.-Kits sollte der Test mit einer frischen Probe eine Woche später wiederholt werden. Die direkte Untersuchung auf EB-Virus kann bei der Diagnosefindung ebenso hilfreich sein.
- Es gibt einige nicht-EBV-assoziierte pathologische Umstände, die bei Hämagglutinationstests wie diesem falsch-positive Ergebnisse liefern können. Dabei handelt es sich um andere virale Infektionen und lymphomatische Erkrankungen.
- Die Verwendung von EDTA-Plasma anstatt Serum kann ebenso mit einer Häufung potenziell irreführender Ergebnisse verbunden sein. Die sorgsame Einhaltung der o.g. Interpretationsrichtlinien minimiert jedoch fehlerhafte Schlussfolgerungen.

## LEISTUNGSDATEN

Das Microgen I.M.-Kit wurde in zwei führenden mikrobiologischen Laboratorien in Großbritannien unabhängig voneinander untersucht.

### Labor 1

Als Teil einer Untersuchung von 14 kommerziellen Testkits wurden 232 Plasmen und Seren durch das Microgen I.M.-Kit getestet, während parallel dazu ein Referenzsystem bestehend aus einem immunfluoreszierenden Assay für IgM-Antikörper für EBV virales Kapsidantigen und die Erstellung eines hämatologischen Profils verwendet wurden.

Tabelle 1: Vergleich von Microgen I.M.-Kit mit Referenz-IFA

Referenzmethoden	Microgen I.M. Kit		Gesamt
	Positiv	Negativ	
Positiv	73	0	73
Negativ	6	153	159
Gesamt	79	153	232

Sensitivität 100%  
Spezifität 96.2%  
Genauigkeit 97.4%

Es kam zu sechs falsch-positiven Ergebnissen:

- 2 Proben von Patienten, die verdachtsgemäß I.M. anzeigten, obwohl die Referenzmethoden (IFA, Blutausrich und Blutbild) negativ waren.
- 1 Patient zeigte eine Lymphadenopathie.
- 1 Patient zeigte eine chronische Erschöpfung.
- 2 Proben zeigten nur eine schwache Agglutination an. Es lagen keine klinischen Symptome vor, obwohl die Proben durch den Allgemeinarzt für das I.M.-Screening eingesendet wurden.

### Labor 2

Als Teil einer Untersuchung von 6 kommerziell erhältlichen Testkits wurden 40 Plasmaproben, die das Labor zur Durchführung des großen Blutbildes und I.M.-Screenings erhielt, durch Microgen I.M.-Kit getestet. Ein gängiges und angesehenes kommerzielles Assay wurde als Referenzverfahren in Verbindung mit einer mikroskopischen Untersuchung des Blutausriches auf atypische Lymphozyten, charakteristisch für die infektiöse Mononukleose, verwendet.

Tabelle 2: Vergleich von Microgen I.M.-Kit mit Referenzassay

Referenzassay	Microgen I.M. Kit		Gesamt
	Positiv	Negativ	
Positiv	24	0	24
Negativ	0	16	16
Gesamt	24	16	40

Sensitivität 100%  
Spezifität 100%  
Genauigkeit 100%

In diesem Versuch wurden keine widersprüchlichen Ergebnisse gefunden.

## REPRODUZIERBARKEIT

**Reproduzierbarkeit innerhalb der Charge** – Dies wurde durch die Untersuchung einer Charge von Kits bei 3 verschiedenen Anlässen durch 2 Anwender getestet. Die Sensitivität des Kits wurde jedes Mal mit Verdünnungsreihen von Standardreferenzen und Kit-Kontrollseren überprüft. Es gab keine Unterschiede bei den Endpunktitern bei verschiedenen Anwendern/verschiedenen Testanlässen.

**Reproduzierbarkeit zwischen den Chargen** – Der Vergleich der Qualitätskontrolldaten für 30 Chargen des I.M.-Kits haben gezeigt, dass es nur geringfügige Sensitivitätsschwankungen zwischen den Chargen gibt (maximal 1 Verdoppelung der Verdünnung des positiven Referenzserums). Die Reproduzierbarkeit der Spezifität zwischen den Chargen wurde durch die Testung von 3 Chargen des Kits mit einer Reihe von 15 zufällig ausgewählten Plasmaproben bestätigt. Es wurden mit allen Chargen identische Ergebnisse erzielt.

## BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHIE

1. Davisohn, I., Stern, K. and Kashwagi, C. "The Differential Test for Infectious Mononucleosis." Amer. J. Clin. Path., 21 1101 (1951)
2. Paul, J.R. and Bunnell, W.W. "The Presence of Heterophile Antibody in Infectious Mononucleosis." Amer. J. Med., 183 909 (1932)
3. Lee, C.L., Davidsohn, I. and Slaby, R. "Horse Agglutinins in Infectious Mononucleosis." Amer. J. Clin. Path., 49 3 (1968)
4. Davidson, R.J.L. and Main, S.R. "Use of Plasma instead of Sera in Laboratory Test for Infectious Mononucleosis". J. Clin. Path., 24 259 (1971)



Microgen Bioproducts Ltd  
Unit 1, Watchmoor Point  
Camberley  
Surrey, GU15 3AD, UK

WF 0960/09/2017(2)