

## INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

### Intended use:

A rapid slide test for the qualitative and quantitative determination of infectious mononucleosis (IM) in human serum.

### Summary:

Paul and Bunell were the first to report that serum from a patient with infectious mononucleosis (IM) contained heterophile antibodies which agglutinated sheep erythrocytes. These heterophile antibodies react with an antigen which apparently is not responsible for their production. However, it was soon discovered that the test lacked specificity because the naturally occurring Forssman antibody found in serum from some individuals who apparently have not had recent infectious mononucleosis agglutinates unmodified sheep or horse erythrocytes. In 1937, Davidsohn employed a differential absorption procedure which removed the Forssman antibody yet retained the heterophile agglutination characteristic of IM. The Davidsohn modification added specificity but made the test time-consuming and cumbersome to perform. Therefore, the Davidsohn test has been relegated to the role of a reference method for diagnosis of IM. In the attempt to find a suitable alternative Bailey and Raffel discovered that bovine erythrocytes were more sensitive than sheep or horse erythrocytes for detecting IM heterophile antibodies. Since that time antigens, which have been extracted from bovine red cell membranes, have been used in various enzyme immunoassays (EIA) which are both highly sensitive and specific for heterophile antibodies associated IM.

### Test principle:

The Biocon IMslide Infectious Mononucleosis Latex Test provides a suspension of polystyrene latex particles which have been coated with partially purified glycoprotein from bovine red blood cells. The heterophile antibody associated with infectious mononucleosis binds to the corresponding antigenic determinants on the glycoprotein coated latex. This binding is evident by rapid agglutination of the latex. Due to the purification of the bovine red cell glycoprotein the coated latex is not agglutinated by Forssman or serum sickness antibodies at levels normally encountered therefore, no differential absorption is required.

### Reagent concentration:

#### R1:

Polystyrene Latex particles coated with partially purified glycoprotein from bovine red cells.

Preservative

#### R2/positive control:

Antigen containing solution

Preservative

#### R3/negative control:

Solution without Antigen

Preservative

### Preparation and stability:

The reagent and controls are stable up to the expiry date when stored at +2 to +8°C.

Do not freeze!

### Specimen:

Use fresh clear serum specimens.

Plasma, lipemic serum or microbial contamination may cause erroneous results. If the test cannot be performed immediately, store the specimen at +2 to +8°C for up to 24 hours. For longer storage, freeze the serum.

### Notes:

For in vitro diagnostic use.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Reagents containing sodium azide may combine with copper and lead plumbing to form highly explosive metal azides.

Dispose of reagent by flushing with large amounts of water to prevent azide buildup.

The positive and negative controls were prepared from human sera which have been tested using standard methods and found to be non-reactive for HbsAg and HIV antibodies. However, not test method can offer complete assurance that infectious agents are absent. Therefore all human specimens should be considered potentially infectious.

### Limitations – interference:

Although the Biocon IM slide Latex Reagent is highly sensitive and specific, a diagnosis of infectious mononucleosis should not be made on the basis of a positive test result without the support of patient history and hematological or other clinical evidence. Similarly, a negative test result cannot completely rule out infectious mononucleosis. Incubation of the test for longer than the recommended time or microbial contamination may cause false positive reactions. Apparent false positive reactions have been associated with sera from patients with other disease such as rheumatoid arthritis, certain respiratory infections, leukaemia, Burkitt's lymphoma and serum sickness. Although most patients develop heterophile antibodies within 3 weeks of the onset of symptoms, occasional patients may take several months to develop detectable levels. If the Biocon IMslide IM Latex Test is negative in the presence of strong evidence suggesting a diagnosis of infectious mononucleosis, repeat testing on samples obtained at intervals of several days will generally reveal development of the heterophile agglutinin. Some patients with hematological and clinical evidence of infectious mononucleosis remain persistently negative. A single heterophile antibody titer cannot be interpreted as an indication of the stage or severity of the disease. However, titrations on sequential may be useful in following the course of the disease in an individual patient.

### Testing procedure:

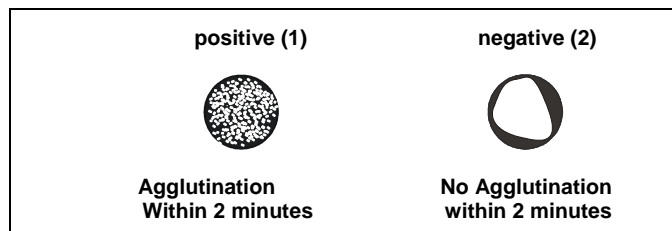
#### Qualitative test:

1. Bring reagents and specimens to room temperature before use.
2. Place one drop (1 x 50 µl) of the positive control on field # 1 of the reaction slide.
3. Place one drop (1 x 50 µl) of the negative control on field # 2. Using a pipette, place one drop (50 µl) of each test specimen on successive fields.
4. Gently resuspend the Latex Reagent and add one drop (35 µl) to each test field. Use stick to spread reaction mixture over entire test field.
5. Rotate the slide for 2 minutes and read **immediately** under direct light.

#### Quantitative test:

1. Bring reagents and specimens to room temperature before use.
2. Using saline, dilute the specimens 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 or as needed.
3. Place one drop (50 µl) of each dilution on successive fields of the reaction slide. Gently resuspend the IM Latex Reagent and add one drop (50 µl) to each test field. Use stick to spread reaction mixture over entire test field.
4. Rotate the slide for 2 minutes and read **immediately** under direct light.

### Interpretation:



### Results:

#### Qualitative test:

A negative reaction is indicated by a uniform milky suspension with no agglutination as observed with the negative control (2). A positive reaction is indicated by any observable agglutination in the reaction mixture. The specimen reaction should be compared with the positive control (1).

#### Quantitative test:

The titer of the serum is the reciprocal of the highest dilution which exhibits a positive reaction.

# IMslide

## INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

### **Sensitivity and method comparison:**

Serum specimens from 285 individuals that had been submitted to clinical laboratories by physicians for IM testing were examined. The Biocon IMslide and another commercial Red Cell IM Test Kit were used to evaluate the specimens. One hundred thirty-two (132) specimens were found positive by both assays. The remaining 153 specimens gave negative results using both products. These data indicate that both sensitivity and specificity of the Biocon IMslide Latex are 100%.

### **Precision:**

In a study on precision, a panel of 10 serum samples with IM heterophile antibody titers from 1 to 256 were tested on 10 consecutive days by the Quantitative Method (100 determinations). No determinations gave more than a 2-fold difference from the mean titer for a sample.

### **Quality control:**

Biocon IMslide **R2/positive control** and **R3/negative control** should be included in each test series. The **R2** should produce strong agglutination and the **R3** should yield a smooth suspension with no agglutination.

### **Presentation:**

#6020	20 tests	complete kit
#6050	50 tests	complete kit

### **Literature:**

1. Balley, G. H. and Raffel, S. J. Clin. Invest., 14:228-244
2. Beer, P., J. Clin. Invest. 15:591, 1936
3. Davidsohn, J., J. A. M. A. 108:289, 1937
4. Fletscher, M. A. and Wolfolk, B. J., J. Immunol., 107:380
5. Paul, J.R. and Bunell, W. W., Am. J. Med, Sci. 1932



Biocon® Diagnostik  
Hecke 8  
34516 Vöhl/Marienhagen  
Germany

# IMslide

## INFEKTIOSE MONONUKLEOSE

### Anwendungszweck:

Agglutinationsschnelltest zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Infektiöser Mononukleose (IM) in Humanserum.

### Zusammenfassung:

Paul und Bunell haben als erste berichtet, dass Serum von Patienten mit Infektiöser Mononukleose heterophile Antikörper enthielt, die in der Lage waren, Schaferythrozyten zu agglutinieren. Diese heterophilen Antikörper reagieren mit einem Antigen, dass offensichtlich nicht für ihre Entstehung verantwortlich ist. Es wurde jedoch schnell gefunden, dass dieser Test unspezifische Signale zeigen kann, da mit dem sogenannten Forssman-Antikörper ein weiterer Antikörper gefunden wurde, der zu einer Agglutination unmodifizierter Schaf- oder Pferde-Erythrozyten führt. Allerdings tritt dieser Antikörper auch bei Patienten auf, die nicht an Infektiöser Mononukleose erkrankt sind oder waren. Daher verwendete Davidssohn 1937 ein differentielles Adsorptionsverfahren, mit dem der Forssman-Antikörper entfernt wurde, die heterophile IM-Spezifität jedoch beibehalten wurde. Da die Davidssohn Modifikation nicht nur die Spezifität des Tests erhöhte, sondern auch eine schnellere und einfachere Durchführung erlaubte, wurde dieses Verfahren zu einer Referenzmethode zur Diagnose von IM. Bei dem Versuch eine geeignete Alternative zu finden, entdeckten Bailey und Raffel, dass Rinder-Erythrozyten eine höhere Sensitivität zur Bestimmung der heterophilen IM Antikörper boten als Schaf- oder Pferde-Erythrozyten. Seitdem werden für die hochsensitive und spezifische Detektion von heterophilen IM-Assoziierten Antikörpern mit den verschiedensten Enzym-Immunoassays (EIA) Antigene eingesetzt, die aus den Zellmembranen von Rinder-Erythrozyten gewonnen werden.

### Testprinzip:

Der Biocon IMslide Latex Test verwendet eine Suspension von Polystyrol Latex Partikeln, die mit angereinigtem Glykoprotein aus Rinder-Erythrozyten beschichtet sind. Der heterophile IM-Assoziierte Antikörper bindet an die entsprechenden Antigen-determinanten auf dem Glykoprotein-modifizierten Latex. Die Bindungsreaktion führt zu einer offensichtlichen Agglutination. Aufgrund der Verwendung von aufgereinigtem Glykoprotein ist keine differentielle Adsorption erforderlich, da das derart beschichtete Latex bei physiologischen Konzentrationen nicht mit dem Forssman-Antikörper oder anderen Antikörpern kreuz reagiert.

### Zusammensetzung der gebrauchsfertigen Lösung:

#### R1:

Polystyrol Latex Partikel, beschichtet mit angereinigtem Glykoprotein aus Rindererythrozyten

Stabilisator

#### R2/ Positiv-Kontrolle:

Antigen-haltige Lösung

Stabilisator

#### R3/ Negativ-Kontrolle:

Lösung ohne Antigen

Stabilisator

### Herstellung und Haltbarkeit:

Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien und die Kontrollen bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.  
Keinesfalls einfrieren!

### Untersuchungsgut:

Frische, klare Serumproben verwenden.

Plasma, lipämische Seren oder mikrobielle Kontaminationen könne die Ergebnisse verfälschen. Falls der Test nicht unmittelbar durchgeführt werden kann, kann das Probenmaterial bis zu 24 h bei +2°C - +8°C gelagert werden. Für länger andauernde Lagerung die Proben einfrieren.

### Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Reagenzien enthalten Natriumazid zur Konservierung. Mit Kupfer oder Blei können sich hochexplosive Metallazide bilden. Gegebenenfalls daher mit reichlich Wasser spülen, um die Azidentstehung zu verhindern. Das bei den Kontrollen verwendete Human Serum wurde auf HbsAG und HIV untersucht und es wurde ein negativer Befund erstellt. Dennoch ist

das Material zu behandeln, als ob es infektiös ist, und ein sorgfältiger Gebrauch zu empfehlen

### Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Obwohl der Biocon IMslide Agglutinationstest eine hohe Spezifität und Sensitivität aufweist, sollte die Diagnose einer Infektiösen Mononukleose nicht erhoben werden, ohne die Ergebnisse im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Genauso kann bei einem negativen Testbefund eine Infektiöse Nukleose nicht absolut ausgeschlossen werden. Zu lange Inkubationszeiten beim Testverfahren oder mikrobielle Verunreinigungen können zu falsch positiven Signalen führen. Bekannte Ursachen für falsch positive Reaktionen sind Erkrankungen wie Rheumatoide Arthritis, verschiedene Atemwegserkrankungen und Leukämie, Burkitt Lymphom oder Typ III Hypersensitivität.

Obwohl die meisten Patienten innerhalb von drei Wochen nach Beginn der Symptome heterophile Antikörper entwickeln, kann es bei einigen Patienten Monate dauern, bis nachweisbare Mengen vorhanden sind. Falls alles auf die Diagnose einer IM hinweist, der Biocon IMslide Test aber ein negatives Signal zeigt, sollte der IMslide Test mehrfach mit einem Intervall von einigen Tagen wiederholt werden. In der Regel wird sich die Bildung von heterophilen Antikörpern nachweisen lassen. Einige Patienten bleiben allerdings dauernd Test negativ, obwohl sie alle Symptome einer IM Infektion aufweisen.

Eine einzelne Messung des IM-Antikörper Titers kann nicht für die Bewertung des Stadiums oder der Schwere der Erkrankung herangezogen werde. Trotzdem sind wiederholte Titer-Messungen bei einem Patienten sinnvoll, um den Krankheitsverlauf verfolgen zu können.

### Testdurchführung:



#### **Qualitativer Test:**

1. Reagenzien und Proben auf RT bringen.
2. Einen Tropfen (bzw. 50 µl) des zu untersuchenden Serums bzw. der Kontrollseren auf ein schwarzes Feld der Testplatte pipettieren.
3. Einen Tropfen der gut gemischten IMslide Latex-Suspension auf das verwendete Testfeld frei fallen lassen (Flasche dabei senkrecht halten).
4. Beide Tropfen mit einem Rührstäbchen gut mischen. Testplatte rotierend bewegen, ca. 2 Minuten oder 2 Minuten auf einem entsprechenden Schüttelgerät bei 60-80 UpM belassen.
5. Nach diesen 2 Minuten Reaktionszeit das Agglutinationsergebnis **sofort** unter Licht bewerten.

#### **Quantitativer Test:**

1. Reagenzien und Proben auf RT bringen.
2. Serum Probe 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 oder entsprechend mit Kochslazlösung verdünnen.
3. Auf jedes Testfeld 1 Tropfen (50 µl) der Verdünnung geben.
4. Auf jedes Testfeld 1 Tropfen des gut gemischten IMslide Latexreagenz (50 µl) geben. Jedes Testfeld für sich mittels Spatula Dispenser verrühren.
5. Die Testkarte 2 Minuten so bewegen, dass sich die Flüssigkeit mischt. Anschließend **sofort** unter Licht ablesen.

### Interpretation:

Positiv (1)	Negativ (2)
	
<b>Agglutination Innerhalb von 2 Minuten</b>	<b>Keine Agglutination Innerhalb von 2 Minuten</b>

# IMslide

## INFEKTIÖSE MONONUKLEOSE

### Auswertung:

#### **Qualitativer Test:**

Eine negative Reaktion zeigt sich einheitlich milchig, ohne Agglutination / siehe negative Kontrolle (2).  
Eine positive Reaktion zeigt sich durch eine Agglutination in der Reaktionsmischung / siehe positive Kontrolle (1).

#### **Quantitativer Test:**

Die Konzentration ist entsprechend der positiv abgelesenen Verdünnung.

### Sensitivität und Methodenvergleich:

Serumproben von 285 Probanden, bei denen eine laborärztliche Untersuchung aufgrund von IM-Verdacht durchgeführt werden sollte, wurden mit dem Biocon IMslide Test und einem Erythrozyten IM Test Kit parallel untersucht. Einhundertzweiunddreißig (132) Proben waren in beiden Tests positiv. Die verbleibenden 153 Test zeigten mit beiden Verfahren ein negatives Ergebnis. Unter diesen Bedingungen zeigte der Biocon IMslide Test eine Sensitivität und eine Spezifität von 100%.

### Präzision:

In einer Präzisionsstudie wurde eine Gruppe von 10 Serumproben mit Titern an heterophilem IM-Antikörper zwischen 1:1 und 1:256 an 10 aufeinanderfolgenden Tagen mit der qualitativen Methode getestet (100 Bestimmungen). Keine Bestimmung unterschied sich um mehr als einen Faktor 2 von dem Durchschnittswert der Probe.

### Qualitätskontrolle:

Die Biocon IMslide Kontrollen **R2/ Positivkontrolle** und **R3/Negativkontrolle** sollten bei jeder Testserie mitgeführt werden. Die Kontrollen werden durchgeführt, wie unter Testdurchführung beschrieben. Anstatt der Serumproben wird jeweils ein Tropfen der Kontrollen eingesetzt. Mit der Negativ-Kontrolle darf keine Agglutination beobachtet werden, während die Positiv-Kontrolle stets eine starke Agglutination zeigen muss.

### Bestellinformationen:

#6020	20 Teste	Komplettpackung
#6050	50 Teste	Komplettpackung

### Literatur:

1. Balley, G. H. and Raffel, S. J. Clin. Invest., 14:228-244
2. Beer, P., J. Clin. Invest. 15:591, 1936
3. Davidsohn, J., J. A. M. A. 108:289, 1937
4. Fletscher, M. A. and Wolfolk, B. J., J. Immunol., 107:380
5. Paul, J.R. and Bunell, W. W., Am. J. Med, Sci. 1932



Biocon® Diagnostik  
Hecke 8  
34516 Vöhl/Marienhagen  
Germany