



ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Clearview IM е лесен и бърз имуноензимен метод за качествено определяне на IgM хетерофилните антитела на инфекциозната мононуклеоза в проби от цяла човешка кръв, серум или плазма. Използва се само за инвитро диагностика.

ВЪВЕДЕНИЕ

Инфекциозната мононуклеоза (ИМ) е акутна херпес вирус инфекция, причинена от вируса на Epstein-Barr. Това е заболяване с различна тежест на протичането, като се характеризира с разнообразни симптоми, като летаргия, болки в гърлото, лимфоаденопатия, спленомегалия, хепатит и жълтеница. В редки случаи, като последствие от заболяването, могат да се наблюдават автоимунна хемолитична анемия, спонтанна руптура на далака и прогресиране до остра лимфобластна левкемия. Лечението на ИМ основно е симптоматично, със задължителен постелен режим, чиято цел е да се предпази болния от по-сериозни усложнения на черния дроб или далака. Също така се препоръчват аналгетици, за да се копира болковия синдром¹.

По време на острата фаза на заболяването в около 80-90% от случаите се появяват хетерофилните

антитела, основно от клас IgM^{1,2,3}. Те са доказуеми обикновено 1-12 седмици след началото на инфекцията, обаче е възможно да персistirат и до една година^{3,4}.

Хетерофилните антитела при ИМ могат да бъдат открити чрез аглутинация на червени кръвни клетки на бозайници. Специфичността се увеличава от диференциалната абсорбция на серума, чрез което се премахват другите неспецифични антитела. Антигените, получени от мембраните на волски еритроцити са по-специфични по отношение хетерофилните антитела на ИМ, отколкото антигените, получени от еритроцити на овце или коне^{3,4}.

Clearview IM използва гликопротеин, получен от еритроцити на волове и поради тази причина е високо специфичен, като не се изисква предварителна обработка на пробата и се получават ясни, недвусмислени резултати.

ПРИНЦИП НА ТЕСТА

Пробата от пациента (цяла кръв, серум или плазма) се добавя към абсорбционната плака в прозорчето за нанасяне на проби (A) на касетата. Ако работите с цяла кръв трябва да добавите и разредител (R1). Абсорбционната плака съдържа сини микросфери, свързани с гликопротеина на волските еритроцити. Пробата придвижва тези сини микросфери по продължение на плаката. В зоната на прозорчето за отчитане на резултата (B) се съдържа имобилизиран гликопротеин от волски еритроцити. Ако в пробата има ИМ хетерофилни антитела тогава в резултатното прозорче ще се образува синя линия. Ако в пробата няма такива антитела резултатното прозорче ще остане чисто.

Clearview IM също така предлага вградена контрола. Касетата съдържа зона от миши антитела. Наличието на синя лента в зоната на контролното прозорче (C) показва, че тестът е изпълнен правилно.

ПРЕДОХРАНИТЕЛНИ МЕРКИ

По време на тестване трябва да се спазват правилата за работа с инфекциозни агенти и химически реактиви.

Препоръчва се използването на ръкавици за еднократна употреба.

Изхвърляйте на обозначените места всички контаминирани отпадъци като касетите Clearview IM и пипетите.

СЪДЪРЖАНИЕ НА КОМПЛЕКТА И СЪХРАНЕНИЕ

Clearview IM трябва да се съхранява от 2 до 30°C. Не използвайте тестове с изтекъл срок на годност. Всеки комплект съдържа необходимите материали за 20 тествания.

Материали в комплекта:

20 Clearview IM касети

20 пипети за еднократна употреба

1 x 2 мл R1, натриева сол на фосфатен буфер

Необходими материали, които не са включени в комплекта:

Епруветки за взимане на кръв

- **За цяла кръв** – 50 мкл капилярни тръбички, покрити с антикоагулант за взимане на проба от пръста или епруветки за кръв, съдържащи антикоагулант. ЕДТА, цитрат или хепарин могат да бъдат използвани за антикоагуланти. Спазвайте инструкцията на производителя.

- **За серум** – Използвайте стандартна епруветка за кръв като след това направите разделяне чрез центрофугиране или ако искате използвайте физически сепаратор за изолиране на серума. Спазвайте инструкцията на производителя.

- **За плазма** – Използвайте епруветки за кръв, съдържащи който и да е от наличните антикоагуланти: ЕДТА, цитрат или хепарин. Спазвайте инструкцията на производителя.

СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Пробата от цяла кръв трябва да се използва веднага. На замръзвявайте. Пробите от серум или плазма могат да бъдат съхранявани до три дни при температура от 2 до 8°C или до един месец ако са замръзени на -20°C.

ПРОЦЕДУРА НА АНАЛИЗА

Бъдете сигурни, че всички материали и проби са темперирани на 18-30°C. Когато сте готови да направите анализ разкъсайте алуминиевото фолио, извадете касетата Clearview IM и я поставете на равна повърхност. Изпълнете една от следните процедури:

1. Цяла кръв: като използвате приложената пипета капнете 2 капки цяла кръв в прозорчето за нанасяне на пробата и веднага добавете 2 капки от стандартен разтвор R1 направо от шишенцето. Тестът трябва да се отчете 15 минути след накапването на пробата.

2. Цяла кръв (от пръста): вземете кръв от пръста, като използвате 50 мкл капилярна епруветка, покрит

с антикоагулант. Директно накапете кръвта в прозорчето за нанасяне на проби и веднага добавете 2 капки от стандартен разтвор R1 направо от шишенцето. Тестът трябва да се отчете 15 минути след накапването на пробата.

3. Серум или плазма: използвайте приложените пипети, за да накапете 4 капки от материала в прозорчето за нанасяне на пробата. Тестът трябва да се отчете 5 минути след накапването.

РАЗЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Наличието на синя линия в контролната зона на теста (С) в рамките на времето за отчитане на резултата показва, че тестът е проведен правилно. Ако няма синя линия в този период от време процедурата на теста трябва да се повтори, като използвате нова Clearview IM касета.

Положителен резултат се получава ако в резултатното прозорче (В) в рамките на времето за отчитане на резултата се появи синя линия. Може да се наблюдава разлика в интензитета на оцветяването на резултатната (тестовата) и контролната линия, но тази разлика не трябва да се има предвид при интерпретация на резултата. Всяка, независимо от интензитета ѝ, синя линия, която се появи в резултатното прозорче 15 минути след накапването на пробата означава положителен резултат (или 5 минути при работа със серум/плазма).

Отрицателен резултат се получава, когато за времето на отчитане на резултата в резултатното прозорче не се появи никаква синя линия.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

1. Clearview IM е приложим за анализ само на кръвни проби (цяла кръв, серум или плазма). Не са установени характеристиките на теста за проби, взети от други места.

2. Не трябва да се използват контаминирани проби или грубо хемолизирани проби. Пробите от серум или плазма трябва да бъдат чисти и в тях не трябва да има чужди частици.

3. Ако в пробата има недостатъчно антигенове може да се получи отрицателен резултат. Ако е получен отрицателен резултат, а симптомите са все още налични се препоръчва провеждането на повторен тест след известен период от време, който ще позволи на антигените да се развият.

4. Публикувани са данни, че 10-20% от инфектираните възрастни пациенти и 50% от децата

под 4 годишна възраст може въобще да не развият хетерофилни ИМ антигени^{1,2,3}.

5. Наличието на хетерофилни антигени е установено и при наличието на други заболявания като левкемия, лимфома на Burkitts, ревматоиден артрит, вирусен хепатит и инфекции, причинени от цитомегаловирус².

6. Тъй като хетерофилните антигени могат да персистират няколко месеца след възстановяването на пациента, то получените в този период положителни резултати за остра инфекциозна мононуклеоза не трябва да се разглеждат изолирано от клиничния и хематологичния статус. За тази цел резултатите, получени от Clearview IM трябва да се интерпретират с хематологичните заключения и клиничните симптоми на пациентите и тогава да бъде поставена диагнозата инфекциозна мононуклеоза.

7. Не използвайте касети, които са навлажнени или са с разкъсано фолио.

ОЧАКВАНИ РЕЗУЛТАТИ

Най-високата честота на случаите с ИМ е между 15 и 19 годишна възраст, като това са 345-671 случая на 100 000 за година². Инфекциите в детската възраст са обикновено субклинични, докато инфекциите в тийнейджърската и младежката възраст са с превалентност 30-70% от случаите⁵. След 35 годишна възраст случаите на заболяването намаляват стремглаво и са необичайни за пациенти над 40 годишна възраст².

КАЛИБРИРАНЕ

Clearview IM е калибриран като са използвани собствени стандарти, получени от разреждането на препарати от серумна банка с висок титър на антигена от пациенти с положителна ИМ.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

Резултатите от Clearview IM теста са охарактеризирани чрез провеждане на мултицентрично клинично проучване. Пробите на пациенти със съмнения за ИМ са анализирани с тестовите Clearview IM и с друг наличен комерсиален тест за червени кръвни телца (тест А). Всички противоречиви резултати са анализирани по-нататък със специфична имунологична проба, съдържаща вируса на Epstein-Barr, за наличието на

антигена (IgG или IgM) срещу капсиден или нуклеарен антиген.

Получените резултати са както следва:

Проба	Тест А	Clearview IM		Чувствителност	Специфичност
		+	-		
Цяла кръв	+	64	0	95,5%	100,0%
	-	3	187		
Серум/плазма	+	66	0	98,5%	100,0%
	-	1	187		

Тези резултати са потвърдени и от независими изследвания^{4,6}.

ЗА СЪВЕТИ

Ако имате въпроси по отношение на теста, моля обадете ни се в службите за клиенти на Unipath в Англия на телефон: +44 8705 134952, на WEB страницата: www.clearview.com или във "Фромвулеви" ЕООД – представителство на Unipath Ltd. за България на телефони – (+2) 9433167, (+2) 9461167, на E-Mail: test@fromvoulevs.com. Повече информация можете да получите и от WEB страницата: www.fromvoulevs.com.

Защитено от патенти, вкл. EP291194, EP560411, AU626207, AU656966, AU656967 и региструван дизайн GB2042109, GB 2042110. Съответстващите и другите произтичащи от това права се решават текущо.

© 2003 Unipath, Clearview и логото са запазена търговска марка.

Unipath Ltd., Bedford MK44 3UP, UK.



ЛИТЕРАТУРА

¹ Moffat L.E., (2001), Primary Care Update Ob Gyn, 8(2), 73-77

² Bailey R.E., (1994), Am Fam Physician, 49 (4) 879-88

³ Gray J.J., Caldwell J., Sills M., (1992) Infect., 25, 39-46

⁴ Elgh F., Linderholm M (1996) Clin. Diag. Virol., 7, 17-21

⁵ Morris M.C., Edmunds W.J., (2002) Infect., 45, 107-132

⁶ Bruu A.L., Hjetland R., Holter E., Mortensen L., Natas O., Petterson W., Skar A.G., Skarpaas T., Tjade T., Asjo B (2000) Clin Diag Lab Immunol., 73, 451-456