

Metodbeskrivning

Mononukleostest, MNITOP® OPTIMA IM

Förändring sedan förra utgåvan

Då tidigare test (Clearview® IM) utgått har ett nytt snabbtest, MNITOP® OPTIMA IM, validerats vid klinisk mikrobiologi. Förändringar är därför gjorda under avsnitt *Provtagning/provhantering, Utförande och Avläsning/Tolkning av resultat*.

Indikation

MNITOP® OPTIMA är en snabb immunoanalys för kvalitativ mätning av heterofila IgM-antikroppar vid smittsam mononukleos i helblod, serum eller plasmaprover. Analysen är av visst värde vid behov av preliminärt beslutsstöd vid misstanke om primär infektion med Epstein-Barr-virus (EBV).

Medicinsk bakgrund

Smittsam mononukleos (Infectious Mononucleosis, IM) är en akut herpesvirusinfektion som främst orsakas av primärinfektion med EBV ("körtelfeber"). Detta är en sjukdom som varierar i svårighetsgrad och som karaktäriseras av feber, trötthet, halsont, lymfkörtelförstoring, mjältförstoring, hepatit och ibland ikterus (gulsot). Hos barn dominerar asymptomatiska och lindriga fall. Ovanliga följder av sjukdomen omfattar bland annat spontant brusten mjälte, autoimmun hemolytisk anemi och hemophagocytsyndrom. Behandling av sjukdomen är primärt symptomatisk med vila och vid behov smärtstillande för att lindra smärtan. Parenteral vätsketillförsel eller antivirala åtgärder behövs sällan.

Under den akuta sjukdomsfasen framträder IM-heterofila antikroppar (primärt av IgM-klassen och riktade mot antigen på röda blodkroppar från olika djurarter) i 80-90 % av IM-fallen. IM-heterofila antikroppar, som beskrevs av Paul och Bunnell på 1930-talet, kan oftast påvisas 1-12 veckor efter sjukdomsutbrottet men kan ibland kvarstå mer än ett år. Under tidig fas, upp till tre veckor, av primär EBV-infektion är analysen ofta negativ framför allt hos barn.

För preliminär diagnos ger förutom klinik även kemiska analyser som CRP, blodstatus, diff och leverprover viss vägledning. För att fastställa primär EBV-infektion krävs att serumprov skickas för virusanalyser. Vid klinisk mikrobiologi utförs då analys av anti-EBNA (antikroppar mot nukleärt antigen för EBV är i regel påvisbart från 1-6 månader efter insjuknandet). Anti-EBNA kvarstår i regel resten av livet. Enstaka personer med EBV utvecklar aldrig eller förlorar sitt anti-EBNA. Om anti-EBNA ej är påvisbart utförs även analyser för IgM och IgG mot viruskapsiden (VCA). Dessa antikroppar finns i princip alltid redan vid insjuknande i primär EBV-infektion. Vid svåra eller oklara infektioner med EBV-misstanke kan även PCR för EBV-DNA utföras.

Mätprincip

MNITOP OPTIMA IM är en kvalitativ, lateral immunflödestest för detektion av IM heterofila antikroppar i helblod, serum eller plasma. I detta test är bovina erythrocyter antigen extraherat och immobiliseras i testområdet av testet. Under analysen, reagerar provet med de bovina

erythrocytextraherade antigenbelagda partiklar som har använts på testet. Denna blandning migrerar kromatografiskt längs testkassetten och interagerar med den immobiliserade bovin erythrocytextraherat antigen.

Om provet innehåller IM heterofila antikroppar, kommer en färgad linje visas i testområdet "T", vilket indikerar ett positivt resultat. Om provet inte innehåller heterofila IM-antikroppar, kommer en färgad linje inte visas i denna region som indikerar ett negativt resultat. Som en procedurkontroll, kommer alltid ett streck visas i kontrollområdet "C", vilket indikerar att tillräcklig mängd prov har använts samt att membranet fuktats.

Provtagning/ provhantering

Provmaterial: Helblod, serum eller plasma

Venblod: EDTA-, heparin- eller natriumcitrat-rör.

Kapillärt: Fyll ett kapillär rör (50µl).

Provtagning: Följ instruktioner i Handbok för hälso- och sjukvård, kapitel "Undersökning, provtagning och behandling". Blodprov - kapillär eller venös provtagning.

Används serum eller plasma, separera från blod så snart som möjligt för att undvika hemolys. Använd endast klara, icke-hemolyserade prover.

Hållbarhet:

Testning bör utföras omedelbart efter provtagning. Låt inte proverna stå i rumstemperatur mer än 30 minuter. Om analys ej kan ske direkt kan serum- och plasmaprov förvaras vid 2-8°C i högst tre dagar. Om mer än tre dagar till analys rekommenderas fryst förvaring, under -20°C. Helblod genom venpunktion kan förvaras vid 2-8°C i högst två dagar, får ej frysas. Kapillärt helblod testas omedelbart.

Utrustning

Tidtagarur

Material för blodprovstagning

Reagens

Förvaring: Kit förvaras i 2-30°C

Hållbarhet: Använd inte efter det angivna utgångsdatumet på förpackningen. Testkort som tagits ut ur förpackningen ska användas inom 10 minuter. Använd inte enheter som blivit blöta eller om förpackningen är trasig.

Miljö- och säkerhetsaspekter

- De interna kontrollerna innehåller 0,09% Natriumazid och får inte på något sätt komma i kontakt med syra, då utvecklas giftig gas.
- Hantera prover och kontroller som om de vore infektiösa.
- Följ lokala anvisningar för avfallshantering.

Metodkontroller

En linje som framträder vid kontrollområdet (C) är en integrerad positiv procedurkontroll. Det bekräftar tillräcklig provvolym och att korrekt teknik använts.

Intern kontroll: Positiv och negativ kontroll medföljer kitet. Bör köras varje gång ett nytt kit öppnas. Utförande: 1 droppe positiv eller negativ kontroll + en droppe buffert sätts till provbrunnen (S). Avläs efter 5 minuter.

De interna kontrollerna innehåller Natriumazid, se miljö- och säkerhetsaspekter ovan.

Extern kontroll: Beställs på www.equalis.se under kvalitetssäkringsprogram \ anmälan.

Utförande

Förberedelser: Låt prov, testkort och buffert bli rumstempererade. Öppna folieförpackningen och ta fram testkortet. Följ därefter testprocedur nedan. **OBS.** Håll alltid pipett/flaska vertikalt vid droppning för att erhålla rätt volym.

1. Tillsätt patientprov till provbrunnen (S)

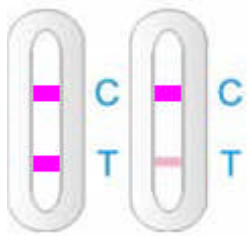
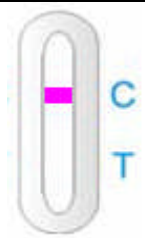
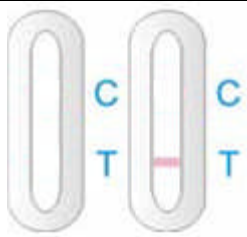
Helblod a) Venblod: 2 droppar (50 µl)
b) Kapillärblod: 1 kapillärrör (50µl)

Serum/Plasma 1 droppe (25 µl)

2. Tillsätt omgående 1 droppe buffert till provbrunnen (S).

3. Avläs efter **5 minuter**, får ej gå längre än tio minuter. Kasta därefter testkortet.

Avläsning/Tolkning av resultat

	<p>POSITIV: * Två tydliga färgade linjer framträder. En linje skall synas vid kontrollinjeområdet (C) och en annan linje skall framträda vid testområdet (T).</p> <p>*OBS: Intensiteten av färgen i testområdet (T) kommer att variera beroende på koncentrationen av IM heterofila antikroppar närvarande i provet. Därför bör varje nyans av färgen i testområdet (T) anses positiv.</p>
	<p>NEGATIV: En färgad linje framträder vid kontrollinjeområdet (C). Ingen uppenbar färgad linje framträder i testområdet (T).</p>
	<p>OGILTIG: Kontrollinje visas ej (C). Otillräcklig provvolym eller felaktig teknik är den vanligaste orsaken till att kontrollinjen saknas. Läs igenom proceduren samt upprepa testet med en ny test. Om problemet kvarstår, sluta använda testet omedelbart och kontakta din lokala återförsäljare.</p>

Interferens/ felkällor

Felaktig användning

Tidigt i sjukdomsförloppet och framför allt på barn <5år kan analysen bli falskt negativ.

Falskt positiva analyser kan förekomma.

Procedurens begränsningar

MNITOP® OPTIMA IM kan endast användas med blodprov (helblod, serum eller plasma). Testet har inte utvärderats för användning av andra typer av prov. Prover som är eller starkt hemolyserade ska inte användas.

Negativt resultat kan uppstå om provet inte innehåller tillräckligt med antikroppar. Om resultatet är negativt och klinisk misstanke kvarstår rekommenderas utvidgad virusserologi vid Klinisk mikrobiologi. Enligt rapporter kan det förekomma att upp till 10-20 % av smittade vuxna och 50 % av barn under 4 år inte bildar IM-heterofila antikroppar.

Resultatet som erhålls från MNITOP® OPTIMA IM bör tolkas tillsammans kliniska symptom och hematologiska fynd.

För att säkert fastställa eller utesluta primär EBV-infektion rekommenderas analys vid Klinisk mikrobiologiskt laboratorium.

Svarsrutin

Positivt resultat
Negativt resultat

Referenser

Barbara Gärtner: Epstein-Barr virus, Manual of Clinical Microbiology, 10th ed 2011, ASM press, p 1575-1584

MNITOP® OPTIMA – REF 5067 Version 1-16/07/2014