

recomLine Réactif d'avidité

1. Utilisation prévue / Généralités

Utilisation prévue : Système de test pour la détermination de l'avidité des anticorps IgG.

La sérologie infectieuse classique repose sur l'observation que les anticorps IgM spécifiques de l'agent pathogène ne sont produits que de manière transitoire, tandis que la réponse IgG correspondante persiste. La détection d'IgM indique donc une infection aiguë, tandis que la détection d'IgG sans IgM parallèle révèle une infection antérieure. Cependant, en raison de la variabilité de la réponse immunitaire et de l'apparition d'évolutions sérologiques divergentes (réponse IgM persistante, réactivée ou absente, par exemple), cette approche classique peut conduire à des conclusions erronées dans un grand nombre de cas.

L'avidité est une mesure de la force de liaison entre l'anticorps et l'antigène. Dans la phase initiale d'une infection, les anticorps IgG présentent une liaison plus faible avec l'antigène ; les anticorps à liaison plus forte signalent une infection qui s'est produite il y a plus longtemps. La détermination de l'avidité des IgG fournit de l'information sur l'âge d'une infection en tant qu'analyse complémentaire à la sérologie classique. Lors de la formation de la réponse IgG, l'avidité des IgG formées envers l'antigène correspondant augmente successivement – un processus immunologique extrêmement régulier. Par conséquent, il y a toujours des IgG de faible avidité dans les cas d'infections aiguës et des IgG de forte avidité dans les cas d'infections antérieures. Cette observation a permis d'introduire un nouveau marqueur très informatif dans le diagnostic ces dernières années : l'avidité des IgG.

2. Principe du test

Pour la procédure de test, deux bandes de test sont incubées avec un échantillon sérique dilué. Au cours de cette incubation initiale, les anticorps présents dans l'échantillon se lient à leurs antigènes spécifiques fixés sur la bande de test. Une des deux bandes de test est ensuite lavée avec la solution d'avidité. Au cours de cette étape, les anticorps de faible avidité se diffusent, tandis que les anticorps de forte avidité restent liés à leurs antigènes spécifiques. Après le lavage, on ajoute des anticorps anti-humains conjugués à la peroxydase de raifort. La visualisation des anticorps spécifiques liés à leurs antigènes se fait après un nouveau lavage par l'ajout d'un substrat qui rend les complexes antigène-anticorps visibles au moyen de lignes apparaissant sur les bandes de test. La position relative des lignes de couleur indique la spécificité des anticorps réactifs. La comparaison finale des deux bandes de test correspondantes permet d'évaluer l'avidité des anticorps, ce qui permet ensuite d'interpréter le stade de l'infection.

3. Matériel fourni

Les réactifs fournis suffisent à effectuer 25 analyses.

Chaque lot de réactifs contient :

| | | |
|---------------|---|---|
| AVIDI | 1 | réactif d'avidité (solide 25 g) pour 60 ml de solution prête à l'emploi |
| INSTRU | 1 | mode d'emploi |

4. Matériel nécessaire mais non fourni

Éprouvette graduée pour 50 ml, chronomètre

5. Avertissements et consignes de sécurité

- Lors de la manipulation du réactif (solide), l'utilisation d'une protection respiratoire et oculaire est requise, l'utilisation d'une protection cutanée est recommandée. La solution prête à l'emploi peut être utilisée sans protection respiratoire. En cas de contact avec les yeux ou la peau, le réactif doit être rincé à grande eau.
- Tout incident grave lié au dispositif doit être notifié au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

6. Durée de conservation et manipulation

Non ouvert, le réactif d'avidité (solide) est stable dans le respect des instructions de l'étiquette. Conserver au réfrigérateur (2 °C à 8 °C) ou à température ambiante. En lien avec le lot de kits recomLine correspondant, la durée d'utilisation correspond toutefois à la durée maximale du lot de kits. Le réactif d'avidité (solide) doit être protégé de l'humidité.

La solution prête à l'emploi peut être conservée au réfrigérateur (2 °C à 8 °C) pendant 8 semaines. Un stockage à -20 °C est possible pendant 12 mois. La solution d'avidité doit ensuite être décongelée dans de l'eau chaude (pendant environ 45 minutes).

7. Préparation de la solution d'avidité prête à l'emploi

Dissoudre le réactif d'avidité pesé dans **40 ml** du tampon de lavage et de dilution prêt à l'emploi. Ce processus de dissolution prend un certain temps et peut être accéléré en chauffant légèrement si nécessaire. La solution finie a un volume final d'environ 60 ml.

8. Procédure du test

8.1 Généralités

Pour chaque échantillon, deux bandes doivent toujours être utilisées en parallèle. Pour permettre une évaluation comparative, une seule des deux bandes reçoit le réactif d'avidité. La reproductibilité des résultats dépend en grande partie du lavage uniforme des bandes. Les fréquences de lavage décrites doivent donc toujours être respectées.

Les spécifications du mode d'emploi des kits de test respectifs s'appliquent également.

8.2 Première incubation

1. Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante (18 °C à 25 °C) pendant 30 minutes environ avant utilisation. Le test doit aussi être réalisé à température ambiante.
2. Un puits (renforcement) de la plaque d'incubation est nécessaire pour chaque test. Pipeter **2 ml** de tampon de lavage/dilution prêt à l'emploi dans chaque puits d'incubation. Une bande de test est ensuite soigneusement plongée dans chacun des puits remplis de tampon de lavage à l'aide de pinces. La numérotation de la bande est dirigée vers le haut.

Attention !

Il est essentiel de s'assurer que les bandes sont complètement imprégnées de liquide et immergées.

3. Pipeter **20 µl** d'échantillon non dilué (sérum/plasma humain) dans chacun des deux puits d'incubation.

La deuxième bande correspondante, qui ne doit pas être traitée avec le réactif d'avidité, doit être incluse pour chaque échantillon.

4. Couvrir le récipient d'incubation et incubé pendant **1 heure** à température ambiante en agitant légèrement. La température d'incubation doit être comprise entre 18 °C et 25 °C.

Il est essentiel de s'assurer qu'il n'y a pas de contamination des puits voisins afin de ne pas créer un résultat faux positif.

8.3 Lavage

1. Après l'incubation, retirer soigneusement les couvercles en plastique des récipients d'incubation.

Attention !

Il faut veiller à ne pas transférer les solutions d'incubation dans les autres puits ; en particulier, il faut éviter les éclaboussures lors de l'ouverture et de la fermeture du couvercle (risque de contamination croisée).

2. La solution de réaction est soigneusement aspirée hors des différents puits, de préférence à l'aide d'un dispositif d'aspiration avec piège à désinfection.

Attention !

Après avoir aspiré la solution d'un puits d'incubation, changer les embouts de pipette ou bien les rincer avec de l'eau désionisée après chaque aspiration pour éviter toute contamination croisée.

- Ajouter **2 ml** de tampon de lavage prêt à l'emploi dans chaque puits et incuber pendant 5 minutes en agitant légèrement. Après l'incubation, le tampon de lavage est aspiré.

8.4 Deuxième incubation

Le tampon de lavage et de dilution est ajouté à une bande et **2 ml** de la solution d'avidité prête à l'emploi sont ajoutés à la deuxième bande et incubés pendant **3 minutes**. Au cours de cette étape, les anticorps de faible acidité sont « éliminés au lavage ».

Attention !

Il est impératif de respecter strictement la durée de trois minutes.

8.5 Lavage

Les solutions sont aspirées des puits d'incubation et les bandes sont lavées à nouveau. Ce faisant, l'étape 3 de la section 8.3 est exécutée trois fois en tout.

8.6 Troisième incubation

Après le lavage des bandes, ajouter 2 ml de solution de conjugué préparée de manière appropriée à chaque puits d'incubation et incuber pendant 45 minutes en agitant légèrement. Le puits d'incubation doit être couvert.

8.7 Lavage

Les solutions sont aspirées des puits d'incubation et les bandes sont lavées à nouveau trois fois (voir section 8.5).

8.8 Quatrième incubation

- Ajouter **1,5 ml** de solution de substrat à chaque puits et incuber pendant 5 à 15 minutes en agitant légèrement à température ambiante.
- Après aspiration du substrat, les bandes sont rincées trois fois avec de l'eau désionisée.
- Les bandes sont soigneusement retirées du bain de lavage à l'aide de pinces et placées sur du papier absorbant pour sécher pendant 2 heures. Les bandes peuvent ensuite être collées sur la feuille d'évaluation jointe et enregistrées.

9. Résultats

L'évaluation des bandes d'avidité doit être effectuée selon les critères pertinents figurant dans le mode d'emploi des paramètres correspondants.

Un anticorps est dit de faible avidité si l'intensité de la bande associée diminue d'environ 50 % lors de la détermination de l'avidité. Cependant, la conclusion selon laquelle chaque anticorps de faible avidité indique une infection récente n'est pas valable. Les évaluations montrent que les anticorps de faible avidité sont différents pour chaque paramètre testé. Il est donc essentiel, pour l'interprétation de l'avidité, de respecter les instructions d'utilisation respectives du paramètre à étudier.

Il y a lieu de comparer les intensités des lignes correspondantes sur les deux bandes de test incubées avec le même sérum. Vérifier si les intensités ont changé.

Une diminution complète de toutes les intensités est une indication relativement sûre d'une infection récente. En règle générale, aucune règle absolue ne peut être établie pour l'évaluation de l'avidité. L'interprétation de l'avidité doit toujours être faite dans le contexte des résultats globaux du test.

10. Limites de la méthode et restrictions






- Il est à noter que les écarts par rapport à la procédure de test indiquée peuvent entraîner des erreurs d'évaluation. Les durées d'incubation prescrites doivent être strictement respectées.

- Tous les résultats de test doivent être considérés comme complémentaires au tableau clinique. Afin de déterminer le diagnostic, les résultats cliniques et l'anamnèse correspondante doivent être inclus dans chaque cas.

11. Caractéristiques

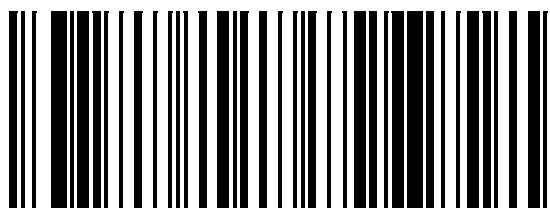
Pour des informations détaillées ou les caractéristiques de performance, veuillez consulter la notice d'utilisation du test *recomLine* pour lequel le réactif d'avidité a été commandé.

12. Explication des symboles

| | |
|---|---|
|  | Contient suffisamment de réactifs pour <n> tests Nombre de tests |
| AVIDI | Réactif d'avidité |
| INSTRU | Notice d'utilisation |
|  | Consulter la notice d'utilisation |
| IVD | Diagnostic in vitro |
| CONT | Contenu |
| LOT | Numéro de lot/version |
| REF | Numéro de référence |
|  | Utiliser jusqu'au Date de péremption |
|  | Conserver entre x °C et y °C |
|  | Fabricant |

Les ajouts, corrections ou modifications par rapport à la version précédente sont indiqués par des marques dans la marge.

| | | |
|------------------------------------|-----------------------------|---|
| recomLine Réactif d'avidité | | No d'article : 11060 |
| | | Mode d'emploi : GIAVID010FR |
| | | valide à partir de : 2023-05 |
| MIKROGEN GmbH | Tél. : +49 (0)89 54 80 1-0 | |
| Anna-Sigmund-Str. 10 | Fax : +49 (0)89 54 80 1-100 | |
| 82061 Neuried | | |
| Allemagne | | |
| www.mikrogen.de | mikrogen@mikrogen.de | |
| | |  |



GIAVID010