

recomLine Reagente Avidità

1. Destinazione d'uso / Aspetti generali

Destinazione d'uso: Sistema per la determinazione dell'avidità degli anticorpi IgG.

La sierologia classica relativa alle malattie infettive si basa sull'osservazione che gli anticorpi IgM specifici verso un determinato patogeno si formano solo temporaneamente, mentre i corrispondenti anticorpi IgG persistono per un tempo maggiore. Per tale motivo, il riscontro di IgM indica lo stadio di infezione acuta, mentre la presenza di IgG, senza corrispondenti IgM, è indicazione di infezione pregressa. Tuttavia, questo approccio classico può portare in molti casi a conclusioni errate, a causa della variabilità della risposta immunitaria e della possibilità di riscontrare procedimenti sierologici anormali (ad esempio risposte IgM persistenti, riattivate o assenti).

L'avidità rappresenta la forza del legame fra un anticorpo e il suo antigene. Viene trovata bassa nella prima fase dopo l'infezione primaria ma poi cresce con il passare del tempo. Quindi, in aggiunta alla diagnosi sierologica classica, la misurazione dell'avidità fornisce informazioni che consentono di discriminare fra un'infezione acuta e un'infezione passata. Durante la risposta immunitaria IgG vi è un continuo aumento dell'avidità di tali anticorpi nei confronti del rispettivo antigene. Ciò corrisponde ad un noto principio immunologico. Per tale motivo, IgG a bassa avidità sono normalmente presenti durante la fase acuta dell'infezione mentre IgG ad elevata avidità sono rilevabili dopo che l'infezione si è conclusa. Come risultato di queste considerazioni negli ultimi anni è stato introdotto un altro marker molto significativo nell'iter diagnostico: l'avidità IgG.

2. Principio del test

Per ogni test vengono incubate contemporaneamente due strisce con lo stesso campione di siero diluito. Durante questa incubazione iniziale, gli anticorpi eventualmente presenti nel campione si legano ai loro corrispondenti antigeni, fissati sulle strisce. Poi, una delle due strisce viene lavata con il reagente avidità. Durante questo passaggio, gli anticorpi a bassa avidità vengono rimossi, mentre gli anticorpi ad alta avidità rimangono legati ai loro antigeni specifici. Dopo una fase di lavaggio, vengono aggiunti anticorpi anti-IgG umane coniugati con perossidasi di rafano. Gli anticorpi specifici legati ai loro antigeni vengono resi visibili tramite l'aggiunta di un substrato cromogeno che determina lo sviluppo di bande scure sulle strisce. La posizione relativa delle bande colorate indica la specificità degli anticorpi reattivi. Il successivo confronto delle due strisce fornisce le basi per la misurazione dell'avidità degli anticorpi e per stabilire lo stadio dell'infezione.

3. Materiali forniti

I reagenti nel kit sono sufficienti per 25 determinazioni.

Ogni kit contiene:

AVIDI	1	Reagente avidità (solido 25g) per 60 ml di soluzione pronta all'uso
INSTRU	1	Istruzioni per l'uso

4. Materiali necessari ma non forniti

Cilindro graduato per 50 ml, timer

5. Avvertenze e prescrizioni di sicurezza

- Nel maneggiare il reagente (in forma solida) si raccomanda di usare sistemi di protezione dell'apparato respiratorio e degli occhi e indumenti idonei per la protezione della cute. La soluzione pronta all'uso può essere usata senza protezione respiratoria. Se il reagente viene a contatto con gli occhi o la cute deve essere sciacquato con abbondante acqua.
- Qualsiasi incidente grave correlato al prodotto deve essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.

6. Conservazione e manipolazione

Il periodo di stabilità del reagente avidità non aperto (in forma solida) è indicato sull'etichetta. Il reagente deve essere conservato in frigorifero (2-8 °C) o a temperatura ambiente. Tuttavia, se usato in associazione con un particolare lotto di un kit *recomLine*, il periodo massimo di stabilità non può eccedere il periodo di stabilità del kit stesso. Il reagente avidità (in forma solida) deve essere protetto dall'umidità.

La soluzione pronta all'uso può essere conservata in frigorifero a 2-8 °C per 8 settimane. Può essere conservata a -20 °C per un periodo di 12 mesi. In tal caso, il reagente avidità deve essere scongelato in acqua calda (per circa 45 minuti).

7. Preparazione della soluzione di avidità pronta all'uso

Il reagente avidità in forma solida deve essere dissolto in **40 ml** di tampone di diluizione/lavaggio pronto all'uso. Tale processo richiede un po' di tempo e può essere accelerato con un lieve riscaldamento. La soluzione finale ha un volume di circa 60 ml.

8. Procedura di test

8.1 Generale

Per ogni campione devono essere testate due strisce in parallelo. Per rendere possibile la valutazione comparativa, solo una delle due strisce viene poi trattata con il reagente avidità. La riproducibilità dei risultati dipende principalmente dalla possibilità di eseguire i lavaggi delle strisce in modo invariato e con la medesima frequenza.

Occorre inoltre seguire in modo accurato le istruzioni per l'uso del rispettivo kit.

8.2 Incubazione iniziale

1. Prima dell'uso, tutti i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (18-25 °C) per circa 30 minuti. Anche il test viene eseguito completamente a temperatura ambiente.
2. Per ogni campione è richiesto l'uso di un canale della vaschetta. Dispensare **2 ml** di tampone di diluizione/lavaggio in ogni canale. Con attenzione aggiungere le strisce nei canali riempiti con il tampone usando delle pinzette. Il numero identificativo delle strisce deve essere rivolto verso l'alto.

Importante!

Assicurarsi che le strisce siano completamente immerse nel tampone

3. Dispensare **20 µl** di campioni non diluiti (siero o plasma umano) in ciascuno dei due canali della vaschetta previsti per l'incubazione dello stesso campione.

Il secondo canale, che non viene trattato con il **reagente avidità**, deve essere testato in parallelo al primo.

4. Coprire la vaschetta con un coperchio di plastica e incubare a temperatura ambiente per **1 ora** su agitatore. La temperatura di incubazione deve essere compresa tra 18°C e 25°C.

Assicurarsi che non vi sia contaminazione fra canali adiacenti, che potrebbe causare risultati falsi-positivi.

8.3 Lavaggio

1. Al termine dell'incubazione rimuovere con attenzione il coperchio di plastica dalla vaschetta.

Importante!

Assicurarsi che le soluzioni di incubazione non fluiscano nei canali vicini; evitare schizzi, specialmente quando si mette o si toglie il coperchio (rischio di cross-contaminazioni).

2. Aspirare con attenzione la soluzione da ogni canale, se possibile con una pompa a vuoto con annesso sistema di decontaminazione.

Importante!

Dopo aver aspirato la soluzione da un canale, cambiare o lavare molto bene il puntale con acqua deionizzata per evitare il rischio di cross-contaminazioni.

3. Dispensare **2 ml** di tampone di diluizione/lavaggio pronto all'uso in ogni canale e incubare per 5 minuti su agitatore. Al termine aspirare il tampone.

8.4 Seconda incubazione

Dispensare **2 ml** di reagente avidità pronto all'uso solo nel primo dei due canali testati per ogni campione, e dispensare 2 ml di tampone di diluizione/lavaggio nel secondo. Incubare per **3 minuti**. In questo passaggio vengono rimossi gli anticorpi a bassa avidità.

Importante!

È molto importante incubare esattamente per tre minuti.

8.5 Lavaggio

Aspirare le soluzioni dai canali e lavare nuovamente le strisce, ripetendo i passaggi al paragrafo 8.3 per un totale di tre volte.

8.6 Terza incubazione

Dopo aver lavato le strisce, dispensare 2 ml di coniugato opportunamente preparato in ogni canale e incubare per 45 minuti su agitatore, coprendo la vaschetta con un coperchio in plastica.

8.7 Lavaggio

Aspirare le soluzioni dai canali e lavare ancora tre volte le strisce come già indicato nel paragrafo 8.3.

8.8 Quarta incubazione

1. Dispensare **1,5 ml** di soluzione substrato in ogni canale, poi incubare per 5-15 minuti a temperatura ambiente su agitatore.
2. Dopo aver aspirato il substrato, lavare le strisce tre volte con acqua deionizzata.
3. Rimuovere le strisce con attenzione utilizzando delle pinzette e farle asciugare su carta assorbente per 2 ore. Incollare poi le strisce sulla scheda di valutazione inclusa nel kit e protocollare i risultati.

9. Risultati

La valutazione delle strisce testate con il reagente avidità si basa sui criteri indicati nelle rispettive istruzioni per l'uso dei corrispondenti kits.

Un anticorpo è considerato a bassa avidità se le bande corrispondenti si riducono di circa il 50% nel test di avidità. Tuttavia la conclusione che gli anticorpi a bassa avidità siano indicatori di un'infezione recente non è corretta. E' stato dimostrato che gli anticorpi a bassa avidità richiedano ulteriori valutazioni per ogni parametro testato. E' quindi assolutamente necessario conformarsi alle istruzioni per l'uso di ogni parametro testato per l'avidità.

Confrontare le intensità delle bande corrispondenti sulle due strisce incubate con lo stesso campione di siero e verificarne l'eventuale cambiamento.

Una riduzione completa di tutte le intensità è un segno relativamente attendibile di un'infezione recente. Generalmente non esistono regole assolute per la valutazione dell'avidità. L'interpretazione dell'avidità deve essere sempre effettuata nel contesto di tutti i risultati del test.






10. Limiti del metodo, limitazioni

- Ogni variazione rispetto alla procedura del test descritta può portare a false interpretazioni dei risultati. E' assolutamente necessario mantenere i tempi di incubazione indicati.
- Tutti i risultati devono essere considerati come un supporto al quadro clinico generale. Per confermare le diagnosi, devono essere valutati i riscontri clinici e la storia medica del paziente.

11. Caratteristiche delle prestazioni

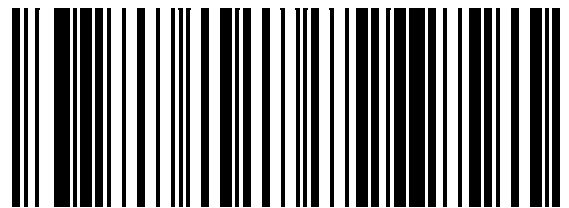
Per informazioni dettagliate sulle caratteristiche delle prestazioni, consultare le istruzioni per l'uso del rispettivo test *recomLine* per il quale è stato ordinato il reagente avidità.

12. Spiegazione dei simboli

	Contiene reattivi sufficienti per <n> determinazioni Numero degli inserimenti
AVIDI	Reagente Avidità
INSTRU	Istruzioni per l'uso
	Osservare le istruzioni per l'uso
IVD	Test in vitro
CONT	Contenuto, contiene
LOT	Numero di lotto/versione
REF	Numero di catalogo
	Utilizzare entro Data di scadenza
	Conservare a una temperatura compresa tra x°C e y°C
	Produttore

Eventuali integrazioni, correzioni o modifiche rispetto alla versione precedente sono contrassegnate da marcature riportate sul margine.

recomLine Reagente avidità		Articolo No.:	11060
		Istruzioni per l'uso:	GIAVID010IT
		valide da:	2023-05
MIKROGEN GmbH	Tel:	+49 (0)89 54 80 1-0	
Anna-Sigmund-Str. 10	Fax:	+49 (0)89 54 80 1-100	
D-82061 Neuried			
Germania			
www.mikrogen.de	mikrogen@mikrogen.de		
			



GIAVID010