

recomLine Aviditná reagencia

1. Účel použitia / všeobecné informácie

Účel použitia: Testovací systém na určenie avidity IgG protilátok.

Klasická infekčná sérológia spočíva na pozorovaní, že protilátky IgM špecifické pre patogén sa tvoria len prechodne, ale zodpovedajúca odpoveď IgG trvá dlho. Nález IgM tak poukazuje na akútnu infekciu, zatiaľ čo nález IgG bez paralelného nálezu IgM indikuje infekciu, ktorá už prebehla pred nejakým časom. Vzhľadom na variabilitu imunitnej odpovede a výskyt odchýlok v sérologickom priebehu (napr. pretrvávajúca, reaktivovaná alebo chýbajúca odpoveď IgM) však tento klasický prístup môže v mnohých prípadoch viesť k chybným záverom.

Avidita je miera pre silu väzby medzi protilátkou a antigénom. V počiatočnej fáze infekcie vykazujú IgG protilátky slabšiu väzbu na antigén; protilátky so silnejšou väzbou poukazujú na infekciu, ktorá už prebehla dávnejšie. Stanovenie avidity IgG ako doplnková analýza ku klasickej sérológii poskytuje pomôcku pre datovanie infekcie. Počas tvorby IgG odpovede dochádza k postupnému zvyšovaniu avidity vytvoreného IgG pre príslušný antigén – ide o mimoriadne pravidelne sa vyskytujúci imunologický proces. Preto je pri akútnej infekcii vždy prítomný IgG s nízkou aviditou a pri infekcii, ktorá už prebehla, IgG s vysokou aviditou. Na základe tohto pozorovania bol v posledných rokoch do diagnostiky zavedený ďalší veľmi informatívny marker: avidita IgG.

2. Princíp testu

Pri vykonávaní testu sa inkubujú dva testovacie prúžky so zriedenou vzorkou séra. Počas tejto prvej inkubácie sa protilátky vo vzorke viažu na svoje špecifické antigény fixované na testovacom prúžku. Potom sa jeden z dvoch testovacích prúžkov premyje aviditným roztokom. V tomto kroku sa nízkoavidné protilátky rozptýlia, zatiaľ čo vysokoavidné protilátky zostanú naviazané na svoje špecifické antigény. Po premytí sa pridajú antihumánne protilátky konjugované s chrenovou peroxidázou. Vizualizácia špecifických protilátok naviazaných na ich antigény sa vykonáva po opätovnom premytí pridaním substrátu, ktorý zviditeľní komplexy antigénu-protilátky tým, že sa objavia pásy na testovacích prúžkoch. Relatívna poloha farebných pásov naznačuje špecifickosť reagujúcich protilátok. Konečným porovnaním dvoch zodpovedajúcich testovacích prúžkov je možné uviesť výpoveď o avidite protilátok, čo následne umožňuje interpretovať štádium infekcie.

3. Dodávané materiály

Reagencie v jednom balení postačujú pre 25 stanovení.

Každá súprava reagensí obsahuje:

AVIDI	1	Aviditnú reagenciu (tuhá látka 25 g) pre 60 ml roztoku hotového na použitie
INSTRU	1	Informácie o použití

4. Požadované, ale nedodané materiály

Odmerný valec s delením pre 50 ml, stopky

5. Varovania a bezpečnostné opatrenia

- Pri manipulácii s reagenciou (tuhá látka) je potrebné používať ochranu dýchacích ciest a ochranu očí, odporúča sa používať ochranu pokožky. Roztok pripravený na použitie sa môže používať bez ochrany dýchacích ciest. Po kontakte s očami alebo pokožkou sa reagencia musí vymyť resp. zmyť veľkým množstvom vody.
- Každá závažná udalosť súvisiaca s výrobkom sa oznámi výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom sídli používateľ a/alebo pacient.

6. Skladovateľnosť a manipulácia

Aviditná reagensia (tuhá látka) je v neotvorenom stave stabilná podľa informácií na etikete. Skladuje sa v chladničke (+2°C až +8°C) alebo pri izbovej teplote. V spojení s príslušnou šaržou súpravy recomLine však životnosť zodpovedá nanajvýš životnosti šarže súpravy. Aviditná reagensia (tuhá látka) sa musí chrániť pred vlhkosťou.

Roztok pripravený na použitie sa môže skladovať v chladničke pri teplote +2 °C až +8 °C počas 8 týždňov. Skladovanie pri teplote -20 °C je možné počas 12 mesiacov. Aviditný roztok by sa mal potom rozmraziť v teplej vode (trvanie približne 45 minút).

7. Príprava aviditného roztoku pripraveného na použitie

Odvážená aviditná reagensia sa rozpustí v **40 ml** premývacieho a riediaceho pufra pripraveného na použitie. Tento proces rozpúšťania trvá určitý čas a v prípade potreby ho možno urýchliť miernym zahriatím. Hotový roztok má konečný objem približne 60 ml.

8. Testovací postup

8.1 Všeobecné informácie

Z každej vzorky sa musia vždy paralelne pripraviť dva prúžky. Aby sa umožnilo porovnávacie hodnotenie, iba jeden z dvoch prúžkov sa ošetrí aviditnou reagensiou. Reprodukovateľnosť výsledkov do značnej miery závisí od rovnomerného premývania prúžkov. Preto by sa mali opísané frekvencie premývania vždy dodržať.

Platia aj informácie uvedené v návode na použitie príslušných testovacích súprav.

8.2 Prvá inkubácia

1. Pred použitím by sa mali všetky reagensie zahriať na izbovú teplotu (+18 °C až +25 °C) na približne 30 minút. Test sa vykonáva tiež pri izbovej teplote.
2. Pre každý test je potrebná inkubačná vanička (jamka) inkubačnej misky. Do každej inkubačnej vaničky napipetujte **2 ml** premývacieho/riediaceho pufra pripraveného na použitie. Potom sa pomocou pinzety opatrne ponorí do každej z vaničiek naplnených premývacím pufrom po jednom testovacom prúžku. Číslovanie prúžkov smeruje nahor.

Pozor!

Je nevyhnutné bezpodmienečne dbať na to, aby boli prúžky úplne navlhčené tekutinou a ponorené.

3. Do každej z dvoch inkubačných vaničiek sa napipetuje **20 µl** neriedenej vzorky (ľudské sérum/plazma).

Ku každej vzorke sa musí pripojiť zodpovedajúca druhá vzorka, ktorá sa nemá ošetriť aviditným činidlom.

4. Inkubačná nádoba sa zakryje a inkubuje **1 hodinu** pri izbovej teplote s miernym pretrepávaním. Inkubačná teplota by mala byť v rozmedzí od +18 °C do +25 °C.

Je nevyhnutné bezpodmienečne dbať na to, aby nedošlo ku kontaminácii susedných vaničiek, a tým k možnému falošne pozitívnemu výsledku.

8.3 Premývanie

1. Po inkubácii sa opatrne odstránia plastové viečka z inkubačných nádob.

Pozor!

Treba dbať na to, aby sa inkubačné roztoky nepreniesli do iných jamiek; najmä sa treba vyhnúť postriekaniu pri otváraní a zatváraní viečka (nebezpečenstvo krížovej kontaminácie).

2. Reakčný roztok sa opatrne odsaje z jednotlivých jamiek, najlepšie pomocou odsávacieho zariadenia s dezinfekčným lapačom.

Pozor!

Po nasatí roztoku z inkubačnej vaničky sa musia špičky pipiet po každom nasatí vymeniť alebo po každom nasávacom procese dobre opláchnuť deionizovanou vodou, pretože existuje riziko krížovej kontaminácie.

- Potom sa do každej jamky pridajú **2 ml** premývacieho pufru pripraveného na použitie a inkubuje sa 5 minút pri miernom pretrepávaní. Po inkubácii sa premývací pufor odsaje.

8.4 Druhá inkubácia

Do jednej vzorky sa pridá premývací a riediaci pufor a do druhej vzorky sa pridajú **2 ml** aviditného roztoku pripraveného na použitie a inkubuje sa **3 minúty**. Pri tomto kroku sa „vymyjú“ nízkoavidné protilátky.

Pozor!

Je nevyhnutné, aby sa presne dodržal časový úsek troch minút.

8.5 Premývanie

Roztoky sa odsajú z inkubačných vaničiek a prúžky sa opäť premyjú. Pritom sa krok 3 odseku 8.3 vykoná celkovo trikrát.

8.6 Tretia inkubácia

Po premytí prúžkov sa do každej inkubačnej vaničky pridajú 2 ml príslušne pripraveného roztoku konjugátu a inkubujú sa 45 minút s miernym pretrepávaním. Inkubačná vanička by mala byť pritom zakrytá.

8.7 Premývanie

Roztoky sa odsajú z inkubačných vaničiek a prúžky sa opäť trikrát premyjú (porovnaj odsek 8.5).

8.8 Štvrtá inkubácia

- Do každej jamky sa pridá **1,5 ml** substrátového roztoku a inkubuje sa 5 – 15 minút pri miernom pretrepávaní pri izbovej teplote.
- Po odsatí substrátu sa prúžky trikrát opláchnu deionizovanou vodou.
- Pomocou pinzety sa prúžky opatrne vyberú z umývacieho kúpeľa a položia na savý papier na 2-hodinové sušenie. Napokon sa prúžky môžu nalepiť na priložený hodnotiaci hárok a zaprotokolovať.

9. Výsledky

Vyhodnotenie aviditných prúžkov sa musí vykonať podľa príslušných kritérií v návode na použitie príslušných parametrov.

Protilátka sa považuje za nízkoavidnú, ak sa pri stanovení avidity zníži intenzita príslušného pásu približne o 50 %. Záver, že každá protilátka s nízkou aviditou poukazuje na čerstvú infekciu, však neplatí. Z vyhodnotení vyplýva, že pre každý skúmaný parameter sa protilátky s nízkou aviditou majú hodnotiť odlišne. Preto je pre interpretáciu avidity nevyhnutné dodržiavať príslušné pokyny na použitie skúmaného parametra.

Porovnajme intenzitu príslušných pásov na dvoch testovacích prúžkoch, ktoré boli inkubované s rovnakým sérom. Venujte pozornosť tomu, či sa intenzity zmenili.

Úplný pokles všetkých intenzít je relatívne bezpečnou indíciou čerstvej infekcie. Vo všeobecnosti nie je pre posúdenie avidity možné stanoviť žiadne absolútne pravidlá. Interpretácia avidity sa musí vždy vykonávať v kontexte celkových výsledkov vyšetrenia.






10. Hranice metódy, obmedzenia

- Poukazuje sa na to, že odchýlky od predpísaného testovacieho procesu môžu viesť k nesprávnym hodnoteniam. Predpísané inkubačné doby sa musia bezpodmienečne dodržiavať.
- Všetky výsledky testov sa majú považovať za dopĺňujúce ku klinickému obrazu. Na určenie diagnózy je potrebné v každom prípade zohľadniť aj klinické nálezy a príslušnú anamnézu.


11. Charakteristika výkonu

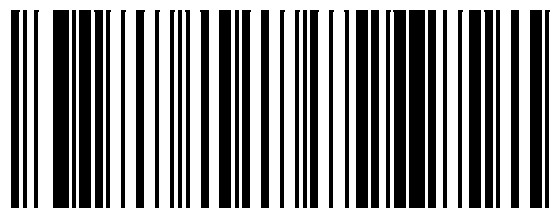
Podrobné informácie týkajúce sa charakteristiky výkonu nájdete v návode na použitie príslušného testu recomLine, pre ktorý bola objednaná recomLine Aviditná reagentia.

12. Vysvetlenie symbolov

	Obsah postačuje pre <n> vzoriek Počet vzoriek
AVIDI	Aviditná reagentia
INSTRU	Návod na použitie
	Dbajte na návod na použitie
IVD	Diagnostická látka in-vitro
CONT	Obsah, obsahuje
LOT	Číslo dávky/verzie
REF	Objednávkové číslo
	Použiteľné do Dátum spotreby
	Skladovanie pri teplote od x°C do y°C
	Výrobca

Doplnenia, opravy alebo zmeny oproti predchádzajúcej verzii sú vyznačené značkami na okraji. /
 Additions, corrections or changes to the previous version are indicated by markings in the margin.

recomLine Aviditná reagentia		Č. výr.:	11060
		Návod na použitie:	GIAVID010SK
		platné od:	2023-05
MIKROGEN GmbH	Tel:	+49 (0)89 54 80 1-0	
Anna-Sigmund-Str. 10	Fax:	+49 (0)89 54 80 1-100	
82061 Neuried			
Germany			
www.mikrogen.de	mikrogen@mikrogen.de		
			



GIAVID010