



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

NovaLisa®

Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG

ELISA

Supplementary Instruction

CE 0483

Only for in-vitro diagnostic use

English	2
Deutsch	6
Français	10
Italiano	14
Español	18
Português	22
Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografía / Bibliografia	26
Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Legenda / Símbolos / Tabela de símbolos	27
Summary of Test Procedure / Kurzanleitung Testdurchführung / Résumé de la procédure de test / Schema della procedura / Resumen de la técnica / Resumo do Procedimento de Teste	28

Product Number: ACMV7110 (48 Determinations)

ENGLISH

1. INTRODUCTION

The presence of IgG antibodies to Cytomegalovirus indicates the occurrence of the infection but does not distinguish between recent and past infection. Virus-specific IgM antibodies are first detected approximately in ten days and peak at about four weeks post infection. They may persist for several months after acute infections. Based on the evidence that antibody avidity gradually increases after exposure to an immunogen, avidity of IgG antibodies can be used as a marker for distinguishing recent primary from long-term infections. Avidity describes the binding strength of a specific antibody to its antigen. Low-avidity IgG antibodies indicate a primary infection, whereas the presence of IgG antibodies with high avidity points to persistency or reactivation of infection.

2. INTENDED USE

The Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA is intended to indicate the CMV-specific IgG avidity in human serum or plasma (citrate, heparin) to differentiate between acute and past infection.

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The qualitative immunoenzymatic determination of specific antibodies is based on the ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) technique.

Microplates are coated with specific antigens to bind corresponding antibodies of the sample (dual pipetting). After washing the wells to remove all unbound sample material, one well is incubated with avidity reagent and the corresponding well with washing buffer. The avidity reagent removes the low-avidity antibodies from the antigens whereas the high-avidity ones are still bound to the specific antigens. After second washing step to remove the rest of avidity reagent and low-avidity antibodies, a horseradish peroxidase (HRP) labelled conjugate is added. This conjugate binds to the captured antibodies. In a third washing step unbound conjugate is removed. The immune complex formed by the bound conjugate is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate which gives a blue reaction product.

The intensity of this product is proportional to the amount of specific antibodies in the sample. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorbance at 450/620 nm is read using an ELISA microwell plate reader.

4. MATERIALS

4.1. Reagents supplied

- **Avidity Reagent:** 1 bottle containing 15 ml of an urea solution; coloured blue; ready to use; black cap.
- **Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG Control Low:** 1 vial containing 2 ml control (human serum or plasma); coloured yellow; ready to use; blue cap.
- **Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG Control High:** 1 vial containing 2 ml control (human serum or plasma); coloured yellow; ready to use; red cap.

For potential hazardous substances please check the safety data sheet.

4.2. Materials supplied

- 1 Instruction for use Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG-ELISA (Product Number: ACMV7110)
- 1 Instruction for use Cytomegalovirus (CMV) IgG-ELISA (Product Number: CMVG0110)
- 1 empty labelled bottle (white with white cap) for ready to use Washing Buffer

5. STABILITY AND STORAGE

Store the kit at 2...8 °C. The opened reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C.

6. REAGENT PREPARATION

It is very important to bring all reagents and samples to room temperature (20...25 °C) and mix them before starting the test run!

6.1. Avidity Reagent

If crystals have formed in the reagent warm up to 37 °C e.g. in a water bath and mix gently until they disappear.

6.2. Washing Buffer

It is recommended to fill 15 ml ready to use Washing Buffer into supplied bottle (s. 4.2) to use it in step 5 of the test preparation.

Note: Ready to use Washing Buffer is stable for 5 days at room temperature (20...25 °C).

7. SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Use human serum or plasma (citrate, heparin) **CMV IgG positive** samples with this assay.

Note: For samples with high absorbance values (OD > 2.000) appropriate higher dilutions should be used.

7.1. Sample Dilution

Before assaying, all samples should be diluted 1+100 with IgG Sample Diluent. Dispense 10 µl sample and 1 ml IgG Sample Diluent into tubes to obtain a 1+100 dilution and thoroughly mix with a Vortex.

8. ASSAY PROCEDURE

8.1. Test Preparation

Please read the instruction for use carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the instruction for use as described. The following test procedure is only validated for manual procedure. If performing the test on ELISA automatic systems we recommend increasing the washing steps from three to five and the volume of Washing Buffer from 300 µl to 350 µl to avoid washing effects. Pay attention to chapter 12. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all samples and standards/controls (duplicates recommended) should be carefully established on the plate layout supplied in the kit. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Perform all assay steps in the order given and without any delays.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each standard/control and sample.

Adjust the incubator to 37 ± 1 °C.

For avidity determination dual pipetting of standards/controls and diluted samples is needed.

1. Dispense 100 µl standards/controls and diluted samples into their respective wells. Leave wells A1/A2 for the Substrate Blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 1 hour \pm 5 min at 37 ± 1 °C.**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 µl of Washing Buffer. Avoid overflows from the reaction wells. The interval between washing and aspiration should be > 5 sec. At the end carefully remove remaining fluid by tapping strips on tissue paper prior to the next step!
Note: Washing is important! Insufficient washing results in poor precision and false results.
5. Dispense 100 µl of Avidity Reagent in wells B1, C1, D1, E1 etc., except for the Substrate Blank well A1. Dispense 100 µl of Washing Buffer in wells B2, C2, D2, E2 etc., except for the Substrate Blank well A2.
6. **Incubate for exactly 10 min at 37 ± 1 °C.**
7. Repeat step 4.
8. Dispense 100 µl Conjugate into all wells except for the blank wells (A1/A2).
9. **Incubate for 30 min at room temperature (20...25 °C).** Do not expose to direct sunlight.
10. Repeat step 4.
11. Dispense 100 µl TMB Substrate Solution into all wells.
12. **Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25 °C) in the dark.** A blue colour occurs due to an enzymatic reaction.
13. Dispense 100 µl Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution, thereby a colour change from blue to yellow occurs.
14. Measure the absorbance at 450/620 nm within 30 min after addition of the Stop Solution.

8.2. Measurement

Adjust the ELISA microwell plate reader **to zero** using the **Substrate Blank**.

If - due to technical reasons - the ELISA microwell plate reader cannot be adjusted to zero using the Substrate Blank, subtract its absorbance value from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!

Measure the absorbance of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each standard/control and sample in the plate layout.

Bichromatic measurement using a reference wavelength of 620 nm is recommended.

Where applicable calculate the **mean absorbance values** of all duplicates.

9. RESULTS

9.1. Run Validation Criteria

In order for an assay to be considered valid, the following criteria must be met:

- **Substrate Blank** Absorbance value < **0.100**
- **Control Low** Avidity (%): < **45 %**
- **Control High** Avidity (%): > **55 %**

If these criteria are not met, the test is not valid and must be repeated.

9.2. Calculation of Results

For each patient sample or control calculate the ratio between the absorbance of the well dispensed with Avidity Reagent and the absorbance of the well dispensed with Washing Buffer multiplied by 100:

$$\frac{\text{Absorbance (sample or control) Avidity Reagent}}{\text{Absorbance (sample or control) Washing Buffer (diluted 1+19)}} \times 100 = \text{Avidity (\%)}$$

Note: For samples with high absorbance values (OD > 2.000) appropriate higher dilutions should be used.

9.3. Interpretation of Results

Result	Avidity	Interpretation
Low-avidity IgG	< 45 %	An avidity index of less than 45 % indicates a primary infection acquired within the past 2 months.
Equivocal	45 – 55 %	No clinical interpretation can be deduced from an equivocal result. It is recommended to take a second sample within an appropriate period of time (e.g. 2 weeks) and repeat testing. If the result of the repeated test is still equivocal, precise statements regarding the time of infection cannot be made.
High-avidity IgG	> 55 %	The presence of high-avidity IgG indicates a past infection or reinfection.

Diagnosis of an infectious disease should not be established on the basis of a single test result. A precise diagnosis should take into consideration clinical history, symptomatology as well as serological data. In immunocompromised patients and newborns serological data only have restricted value. A result of high avidity can not exclude the possibility of a recent infection.

9.3.1. Antibody Isotypes and State of Infection

IgG	IgM	IgG-Avidity	Probable result
+	-	low	Vague, further investigation necessary
+	-	high	Indicative of a past infection
+	+	low	Suggests a current or very recent infection
+	+	high	Suggests a past infection with persisting IgM or reactivation of infection

10. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The results refer to the groups of samples investigated; these are not guaranteed specifications.

For further information about the specific performance characteristics please contact NovaTec Immundiagnostica GmbH.

10.1. Diagnostic Performance

The evaluation of the diagnostic performance of the Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG assay was performed in comparison to well defined samples. The resulting relative agreement was 99.1 %.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the sample may affect the absorbance values.

12. PRECAUTIONS AND WARNINGS

- In compliance with article 1 paragraph 2b European directive 98/79/EC the use of the in vitro diagnostic medical devices is intended by the manufacturer to secure suitability, performances and safety of the product. Therefore the test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use.
- All materials of human or animal origin should be regarded and handled as potentially infectious.
- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive.
- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and standard/control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense reagents without splashing accurately into the wells.
- The ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.

12.1. Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

13. ORDERING INFORMATION

Prod. No.: ACMV7110 Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG (48 Determinations)

DEUTSCH

1. EINLEITUNG

Obwohl die Anwesenheit von IgG-Antikörpern gegen das Cytomegalievirus auf das Vorliegen einer Infektion hindeutet, kann man nicht zwischen einer akuten und einer bereits abgelaufenen Infektion unterscheiden. Virus-spezifische IgM-Antikörper sind ca. zehn Tage nach der Infektion erstmals nachweisbar und erreichen nach ungefähr vier Wochen ihre höchste Konzentration. Sie können für mehrere Monate nach der akuten Infektion im Blut persistent sein. Aufgrund der Tatsache, dass die Antikörper-Avidität nach der Exposition zum Antigen allmählich zunimmt, kann die Avidität von IgG Antikörpern als Marker benutzt werden, um zwischen einer akuten oder einer bereits länger zurückliegenden Infektion zu unterscheiden. Avidität beschreibt die Bindungsstärke der spezifischen Antikörper an das Antigen. Niedrig-avide IgG-Antikörper deuten auf eine frische Infektion hin, während hoch-avide IgG Antikörper ein Hinweis auf eine länger zurückliegende Infektion oder eine Reaktivierung sind.

2. VERWENDUNGSZWECK

Der Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA ist für die Aviditätsbestimmung der spezifischen IgG-Antikörper gegen Cytomegalievirus in humanem Serum oder Plasma (Citrat, Heparin), und zur Differenzierung zwischen akuten und zurückliegenden Infektionen bestimmt.

3. TESTPRINZIP

Die qualitative immunenzymatische Bestimmung von spezifischen Antikörpern beruht auf der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) Technik.

Die Mikrotiterplatten sind mit spezifischen Antigenen beschichtet, an welche die korrespondierenden Antikörper aus der Probe (zweifaches Pipettieren) binden. Nach dem Waschen, wodurch das ungebundene Probenmaterial entfernt wird, wird eine Vertiefung mit dem Aviditätsreagenz und die andere dazugehörige Vertiefung mit dem Waschpuffer inkubiert. Durch das Aviditätsreagenz wird die Bindung zwischen den niedrig-aviden Antikörpern und den Antigenen gelöst, während die hoch-aviden Antikörper noch an den spezifischen Antigenen gebunden bleiben. Nach dem zweiten Waschschrift werden die Reste des Aviditätsreagenzes sowie niedrig-avide Antikörper entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe eines Meerettich-Peroxidase (HRP) Konjugates. Dieses Konjugat bindet an die an der Mikrotiterplatte gebundenen spezifischen Antikörper. In einem dritten Waschschrift wird ungebundenes Konjugat entfernt. Die Immunkomplexe, die durch die Bindung des Konjugates entstanden sind, werden durch die Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB)-Substratlösung und eine resultierende Blaufärbung nachgewiesen.

Die Intensität des Reaktionsproduktes ist proportional zur Menge der spezifischen Antikörper in der Probe. Die Reaktion wird mit Schwefelsäure gestoppt, wodurch ein Farbumschlag von blau nach gelb erfolgt. Die Absorption wird bei 450/620 nm mit einem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen.

4. MATERIALIEN

4.1. Mitgelieferte Reagenzien

- **Aviditätsreagenz:** 1 Flasche mit 15 ml Harnstofflösung; blau gefärbt; gebrauchsfertig; schwarze Verschlusskappe.
- **Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG Kontrolle Niedrig:** 1 Fläschchen mit 2 ml Kontrolle (humanes Serum oder Plasma); gelb gefärbt; gebrauchsfertig; blaue Verschlusskappe.
- **Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG Kontrolle Hoch:** 1 Fläschchen mit 2 ml Kontrolle (humanes Serum oder Plasma); gelb gefärbt; gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe.

Für potenzielle Gefahrstoffe überprüfen Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt.

4.2. Mitgeliefertes Zubehör

- 1 Arbeitsanleitung Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (Produktnummer: ACMV7110)
- 1 Arbeitsanleitung Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (Produktnummer: CMVG0110)
- 1 leere, etikettierte Flasche (weiß mit weißem Deckel) für den gebrauchsfertigen Waschpuffer

5. STABILITÄT UND LAGERUNG

Testkit bei 2...8 °C lagern. Die geöffneten Reagenzien sind bis zu den auf den Etiketten angegebenen Verfallsdaten verwendbar, wenn sie bei 2...8 °C gelagert werden.

6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Es ist sehr wichtig, alle Reagenzien und Proben vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur (20...25 °C) zu bringen und zu mischen!

6.1. Aviditätsreagenz

Sollte eine Kristallisation im Aviditätsreagenz auftreten, das Reagenz z.B. in einem Wasserbad auf 37 °C erwärmen und vor der Verwendung gut mischen.

6.2. Waschpuffer

Es wird empfohlen 15 ml des gebrauchsfertigen Waschpuffers in die mitgelieferte Flasche (s. 4.2) zu überführen, um diese in dem Schritt 5 der Testvorbereitung zu verwenden.

Beachte: Der gebrauchsfertige Waschpuffer ist bei Raumtemperatur (20...25 °C) 5 Tage haltbar.

7. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Es sollten humane Serum- oder Plasmaproben (Citrat, Heparin) verwendet werden, die **CMV IgG positiv** sind.

Beachte: Bei Proben mit sehr hohen Absorptionswerten ($OD > 2,000$) sollen entsprechend höhere Verdünnungen verwendet werden.

7.1. Probenverdünnung

Proben vor Testbeginn im Verhältnis 1 + 100 mit IgG-Probenverdünnungspuffer verdünnen, z.B. 10 µl Probe und 1 ml IgG-Probenverdünnungspuffer in die entsprechenden Röhrchen pipettieren, um eine Verdünnung von 1 + 100 zu erhalten; gut mischen (Vortex).

8. TESTDURCHFÜHRUNG

8.1. Testvorbereitung

Arbeitsanleitung **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Arbeitsanleitung genau zu befolgen. Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Methode validiert. Beim Arbeiten mit ELISA Automaten empfehlen wir, um Wascheffekte auszuschließen, die Zahl der Waschschritte von drei auf fünf und das Volumen des Waschpuffers von 300 µl auf 350 µl zu erhöhen. Kapitel 12 beachten. Vor Testbeginn auf dem mitgelieferten Plattenlayout die Verteilung bzw. Position der Proben und der Standards/Kontrollen (Doppelbestimmung empfohlen) genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen.

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

Für jeden Pipettierschritt der Standards/Kontrollen und Proben saubere Einmalspitzen verwenden.

Den Inkubator auf 37 ± 1 °C einstellen.

Für die Aviditätsbestimmung ist ein zweifaches Pipettieren der Standards/Kontrollen und Patientenproben erforderlich.

1. Je 100 µl Standards/Kontrollen und vorverdünnte Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. Die Vertiefungen A1/A2 sind für den Substratleerwert vorgesehen.
2. Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken.
3. **1 h \pm 5 min bei 37 ± 1 °C inkubieren.**
4. Am Ende der Inkubationszeit Abdeckfolie entfernen und die Inkubationsflüssigkeit aus den Teststreifen absaugen. Anschließend dreimal mit 300 µl Waschpuffer waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Das Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte > 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen auf Fließpapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.
Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falschen Messergebnissen führt!
5. 100 µl Aviditätsreagenz in die Vertiefungen B1, C1, D1, E1 usw., mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes A1 vorgesehenen, pipettieren.
100 µl Waschpuffer in die Vertiefungen B2, C2, D2, E2 usw, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes A2 vorgesehenen, pipettieren.
6. **Genau 10 min bei 37 ± 1 °C inkubieren.**
7. Waschvorgang gemäß Punkt 4 wiederholen.
8. 100 µl Konjugat in alle Vertiefungen, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes A1/A2 vorgesehenen, pipettieren.
9. **30 min bei Raumtemperatur (20...25°C) inkubieren.** Nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen.
10. Waschvorgang gemäß Punkt 4 wiederholen.
11. 100 µl TMB-Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren.
12. **Genau 15 min im Dunkeln bei Raumtemperatur (20...25 °C) inkubieren.** Bei enzymatischer Reaktion findet eine Blaufärbung statt.
13. In alle Vertiefungen 100 µl Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei Zugabe der TMB-Substratlösung pipettieren, dadurch erfolgt ein Farbwechsel von blau nach gelb.
14. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450/620 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopplösung messen.

8.2. Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes den **Nullabgleich** des Mikrotiterplatten-Photometers vornehmen.

Falls diese Eichung aus technischen Gründen nicht möglich ist, muss nach der Messung der Extinktionswert des Substratleerwertes von allen anderen Extinktionswerten subtrahiert werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen!

Extinktion aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der Standards/Kontrollen und Proben in das Plattenlayout eintragen.

Eine **bichromatische** Messung mit der Referenzwellenlänge 620 nm wird empfohlen.

Falls Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt wurden, den **Mittelwert der Extinktionswerte** berechnen.

9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

9.1. Testgültigkeitskriterien

Der Test wurde richtig durchgeführt, wenn er folgende Kriterien erfüllt:

- **Substrat-Leerwert** Absorption < **0,100**
- **Kontrolle Niedrig** Avidität (%): < **45 %**
- **Kontrolle Hoch** Avidität (%): > **55 %**

Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf ungültig und muss wiederholt werden.

9.2. Messwertberechnung

Für jede Probe bzw. Kontrolle wird das Verhältnis zwischen dem Absorptionswert der Vertiefung, die mit dem Aviditätsreagenz inkubiert wurde, und dem Absorptionswert der entsprechenden Vertiefung, die mit dem Waschpuffer inkubiert wurde, bestimmt und mit 100 multipliziert.

$$\frac{\text{Absorptionswert (Probe oder Kontrolle) Aviditätsreagenz}}{\text{Absorptionswert (Probe oder Kontrolle) Waschpuffer (verdünnt 1+19)}} \times 100 = \text{Avidität (\%)}$$

Beachte: Bei Proben mit sehr hohen Absorptionswerten (OD > 2,000) sollen entsprechend höhere Verdünnungen verwendet werden.

9.3. Interpretation der Ergebnisse

Ergebnis	Avidität	Interpretation
Niedrig-avide IgG	< 45 %	Ein Aviditätsindex unter 45 % weist auf eine primäre Infektion, die innerhalb der letzten 2 Monate erworben wurde, hin.
Grenzwertig	45 – 55 %	Wenn die Ergebnisse innerhalb der Grauzone liegen, kann keine klinische Interpretation daraus abgeleitet werden. Es wird empfohlen den Test zu einem späteren Zeitpunkt (z.B. in 2 Wochen) mit einer frischen Patientenprobe zu wiederholen. Finden sich die Ergebnisse erneut im grenzwertigen Bereich, ist die Ermittlung des Infektionszeitpunktes nicht möglich.
Hoch-avide IgG	> 55 %	Die Präsenz hoch-avider IgG deutet auf einen länger zurückliegenden Infektionszeitpunkt oder eine Reinfektion hin.

Die Diagnose einer Infektionskrankheit darf nicht allein auf der Basis des Ergebnisses einer Bestimmung gestellt werden. Die anamnestischen Daten sowie die Symptomatologie des Patienten müssen zusätzlich zu den serologischen Ergebnissen in Betracht gezogen werden. Bei Immunsupprimierten und Neugeborenen besitzen die Ergebnisse serologischer Tests nur einen begrenzten Wert. Die Präsenz hoch-aviden Antikörper schließt die Möglichkeit einer frischen Infektion nicht aus.

9.3.1. Antikörper-Isotypen und Infektionsstatus

IgG	IgM	IgG-Avidität	Wahrscheinliches Ergebnis
+	-	niedrig	Unklar, weitere Untersuchungen erforderlich
+	-	hoch	Deutet auf eine abgelaufene Infektion hin
+	+	niedrig	Deutet auf eine frische oder gerade abgelaufene Primärinfektion hin
+	+	hoch	Deutet auf eine abgelaufene Infektion mit persistierendem IgM oder eine Reaktivierung der Infektion hin

10. TESTMERKMALE

Die Ergebnisse beziehen sich auf die untersuchten Probenkollektive; es handelt sich nicht um garantierte Spezifikationen. Für weitere Informationen zu den Testmerkmalen kontaktieren Sie bitte NovaTec Immundiagnostica GmbH.

10.1. Diagnostische Leistung

Die Evaluierung der diagnostischen Leistung des Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG Tests wurde im Vergleich zu gut definierten Proben durchgeführt. Die daraus resultierende relative Übereinstimmung war 99,1%.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Kontamination der Proben durch Bakterien oder wiederholtes Einfrieren und Auftauen können zu einer Veränderung der Messwerte führen.

12. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Gemäß Art. 1 Abs. 2b der EU-Richtlinie 98/79/EG legt der Hersteller die Zweckbestimmung von In-vitro-Diagnostika fest, um deren Eignung, Leistung und Sicherheit sicherzustellen. Daher sind die Testdurchführung, die Information, die Sicherheitsmaßnahmen und Warnhinweise in der Arbeitsanleitung strikt zu befolgen. Bei Anwendung des Testkits auf Diagnostika-Geräten ist die Testmethode zu validieren. Jede Änderung am Aussehen, der Zusammensetzung und der Testdurchführung sowie jede Verwendung in Kombination mit anderen Produkten, die der Hersteller nicht autorisiert hat, ist nicht zulässig; der Anwender ist für solche Änderungen selbst verantwortlich. Der Hersteller haftet für falsche Ergebnisse und Vorkommnisse aus solchen Gründen nicht. Auch für falsche Ergebnisse aufgrund von visueller Auswertung wird keine Haftung übernommen.
- Nur für in-vitro-Diagnostik.
- Alle Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs sind als potentiell infektiös anzusehen und entsprechend zu behandeln.
- Alle verwendeten Bestandteile menschlichen Ursprungs sind auf Anti-HIV-AK, Anti-HCV-AK und HBsAg nicht-reaktiv getestet.
- Reagenzien und Mikrotiterplatten unterschiedlicher Chargen nicht untereinander austauschen.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwenden.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Nur saubere Pipettenspitzen, Dispenser und Labormaterialien verwenden.
- Verschlusskappen der einzelnen Reagenzien nicht untereinander vertauschen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Flaschen sofort nach Gebrauch fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach dem ersten Öffnen Konjugat und Standards/Kontrollen vor weiterem Gebrauch auf mikrobielle Kontamination prüfen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontamination und falsch erhöhten Resultaten, Reagenzien sorgfältig in die Kavitäten pipettieren.
- Der ELISA ist nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht.

12.1. Entsorgungshinweise

Chemikalien und Zubereitungen sind in der Regel Sonderabfälle. Deren Beseitigung unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde informiert über die Entsorgung von Sonderabfällen.

13. BESTELLINFORMATIONEN

Produktnummer: ACMV7110 Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG (48 Bestimmungen)

FRANÇAIS

1. INTRODUCTION

La présence d'anticorps IgG contre le cytomégalo­virus indique l'apparition de l'infection, mais ne fait pas de distinction entre une infection récente et une infection antérieure. Les anticorps IgM spécifiques du virus sont détectés autour du dixième jour et atteignent un pic à environ quatre semaines après l'infection. Ils peuvent persister pendant plusieurs mois après des infections aiguës. Sur la base de la preuve que l'avidité des anticorps augmente graduellement après l'exposition à un immunogène, l'avidité des anticorps IgG peut être utilisée comme marqueur pour distinguer les infections primaires récentes des infections à long terme. L'avidité décrit la force de liaison d'un anticorps spécifique à son antigène. Les anticorps IgG à bas avidité indiquent une infection primaire, alors que la présence d'anticorps IgG à forte avidité indique une persistance ou une réactivation de l'infection.

2. INDICATION D'UTILISATION

La trousse Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA est destinée à indiquer l'avidité des IgG spécifiques du CMV dans le sérum ou le plasma humain (citrate, héparine) pour différencier les infections aiguës et passées.

3. PRINCIPE DU TEST

La détermination immuno­enzymatique qualitative des anticorps spécifiques est basée sur la technique ELISA (du anglais, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Microplaques sont recouvertes d'antigènes spécifiques pour lier les anticorps correspondants de l'échantillon (Double pipetage). Après le lavage des puits pour éliminer l'échantillon détaché, dans un puits est incubé avec le réactif d'avidité et le puits correspondant avec le tampon de lavage. Le réactif d'avidité élimine les anticorps à bas avidité des antigènes tandis que les anticorps à forte avidité sont encore liés aux antigènes spécifiques. Après la deuxième étape de lavage pour éliminer le reste du réactif d'avidité et des anticorps à bas avidité, le conjugué peroxydase de raifort (HRP) est ajouté. Ce conjugué se lie aux anticorps capturés. Dans une troisième étape de lavage, le conjugué non lié est éliminé. Le complexe immun formé par le conjugué lié est visualisé par l'addition tétraméthylbenzidine (TMB) qui donne un produit de réaction bleu.

L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques dans l'échantillon. L'acide sulfurique est ajouté pour arrêter la réaction. Cela produit un changement du bleu au jaune. L'absorbance à 450/620 nm est lue en utilisant un lecteur de microplaques ELISA.

4. MATERIEL

4.1. Réactifs fournis

- **Avidité Réactifs:** 1 flacon contenant 15 ml d'une solution d'urée; couleur bleue, prêt à l'emploi; bouchon noir.
- **Contrôle Bas Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 flacon contenant 2 ml contrôle (sérum humain ou plasma); prêt à l'emploi; couleur jaune; bouchon bleu.
- **Contrôle Haut Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 flacon contenant 2 ml contrôle (sérum humain ou plasma); prêt à l'emploi; couleur jaune; bouchon rouge.

Pour les substances potentiellement dangereuses s'il vous plaît vérifiez la fiche de données de sécurité.

4.2. Matériel fourni

- 1 instruction d'utilisation Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (Référence ACMV7110)
- 1 instruction d'utilisation Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (Référence CMVG0110)
- 1 flacon étiqueté (blanc avec bouchon blanc) à l'emploi pour Tampon de lavage

5. STABILITE ET CONSERVATION

Conserver le kit à 2...8 °C. Les réactifs ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'il est conservé à 2...8 °C.

6. PREPARATION DES REACTIFS

Il est très important porter tous les réactifs et échantillons à température ambiante (20 ... 25 °C) et les mélanger avant de commencer le test!

6.1. Avidité Réactif

Cas apparaissent des cristaux dans le concentré, chauffer la solution à 37 °C par exemple dans un bain-marie et mélanger doucement jusqu'à ce qu'ils disparaissent.

6.2. Tampon de lavage

Il est recommandé de remplir 15 ml de tampon de lavage prêt à l'emploi dans la bouteille fournie (point 4.2) pour l'utiliser à l'étape 5 de la préparation d'test.

Note: Le tampon de lavage prêt à l'emploi est stable pendant 5 jours à température ambiante (20 ... 25 °C).

7. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser des échantillons humains de sérum ou plasma (citrate, héparine) **CMV IgG positif** pour ce test.

Note: Pour les échantillons avec des valeurs d'absorbance élevées ($DO > 2.000$), des dilutions appropriées doivent être utilisées.

7.1. Dilution de l'échantillon

Avant du test, tous les échantillons doivent être dilués 1 + 100 avec diluant de l'échantillon IgG. Diluer 10 µl d'échantillon avec 1 ml de diluant de l'échantillon IgG dans des tubes pour obtenir une dilution 1 + 100 et mélanger soigneusement sur un Vortex.

8. PROCEDE DE TEST

8.1. Préparation du test

Lire attentivement les instructions d'utilisation **avant de** réaliser le test. La fiabilité des résultats dépend du suivi strict d'utilisation comme décrit. La technique de test suivante a été validée uniquement pour une procédure manuelle. Si le test doit être effectué sur un système automatique pour ELISA, nous conseillons d'augmenter le nombre d'étapes de lavage de trois à cinq et le volume du Tampon de lavage de 300 à 350 µl. Faites attention au chapitre 12. Avant de commencer le test, le plan de distribution et d'identification de tous les échantillons et les étalons/contrôles (il est recommandé de déterminer en double) doivent être soigneusement établis sur la feuille de présentation de la plaque prévue dans le conseil de kit. Sélectionner le nombre de barrettes ou de puits nécessaires et les placer sur le support.

Réaliser toutes les étapes du test dans l'ordre donné et sans délai.

Un embout de pipette propre et jetable doit être utilisé pour distribuer chaque étalon/contrôle et échantillon.

Régler l'incubateur à 37 ± 1 °C.

Pour la détermination de l'avidité, il est nécessaire de pipeter deux fois les étalons/contrôles et dilué les échantillons.

1. Pipeter 100 µl de étalons/contrôles et d'échantillons dilués dans leurs puits respectifs. Garder les puits A1/A2 pour le blanc substrat.
2. Couvrir les puits avec le couvercle, fourni dans le kit.
3. **Incuber pendant 1 heure \pm 5 minutes à 37 ± 1 °C.**
4. A la fin de l'incubation, enlever le couvercle, aspirer le contenu des puits et laver chaque puits trois fois avec 300 µl du Tampon de lavage. Éviter les débordements des puits de réaction. L'intervalle entre le cycle de lavage et l'aspiration doit être > 5 sec. À la fin, enlever soigneusement le liquide restant en tapotant les barrettes sur du papier absorbant avant la prochaine étape!
Note: L'étape de lavage est très importante! Un lavage insuffisant peut conduire à une précision faible et de faux résultats.
5. Pipeter 100 µl du Avidité Réactifs dans les puits B1, C1, D1, E1, etc, sauf le puits Blanc A1.
Pipeter 100 µl du Tampon de lavage dans les puits B2, C2, D2, E2, etc, sauf le puits Blanc A2.
6. **Incuber pour exactement 10 minutes à 37 ± 1 °C.**
7. Répéter l'étape numéro 4.
8. Pipeter 100 µl du conjugué dans tous les puits sauf le puits Blanc A1/A2.
9. **Incuber pendant 30 minutes à température ambiante ($20...25$ °C).** N'exposer pas à la lumière directe du soleil.
10. Répéter l'étape numéro 4.
11. Pipeter 100 µl de la solution de substrat TMB dans tous les puits.
12. **Incuber pendant exactement 15 minutes à température ambiante ($20...25$ °C) dans l'obscurité.** Une couleur bleue se produit en raison d'une réaction enzymatique.
13. Pipeter 100 µl de la solution d'arrêt dans tous les puits dans le même ordre et à la même vitesse que pour la solution de substrat TMB, ainsi, il y a un changement du bleu au jaune.
14. Mesurer l'absorbance à 450/620 nm dans les 30 minutes après l'addition de la solution d'arrêt.

8.2. Mesure

Réglez le lecteur de microplaques ELISA à **zéro** en utilisant le **Blanc substrat**.

Si - pour des raisons techniques - le lecteur de microplaques ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le Blanc substrat, la valeur d'absorbance de cette doit être soustraite la valeur d'absorbance de toutes les autres valeurs d'absorbance mesurées afin d'obtenir des résultats fiables!

Mesurer l'absorbance de tous les puits à **450 nm** et enregistrer les valeurs d'absorbance pour chaque étalon/contrôle et échantillon dans la présentation de la plaque.

Il est recommandé d'effectuer la mesure **dichromatique** utilisant 620 nm comme longueur d'onde de référence.

Si doubles déterminations ont été effectuées, calculer **les valeurs moyennes d'absorbance**.

9. RESULTATS

9.1. Critères de validation

Afin de valider le test, les critères suivants doivent être respectés:

- **Blanc Substrat:** Valeur d'absorbance < **0,100**
- **Contrôle Bas:** Avidité (%): < **45 %**
- **Contrôle Haut:** Avidité (%): > **55 %**

Lorsque ces critères ne sont pas remplis, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

9.2. Calcul des résultats

Pour chaque échantillon de patient ou contrôle, calculer le rapport entre l'absorbance du puits été pipeté le Réactif d'Avidité et l'absorbance du puits été pipeté le Tampon de Lavage multiplié par 100:

$$\frac{\text{Valeur d'absorbance (échantillon ou contrôle) Avidity Reagent}}{\text{Valeur d'absorbance (échantillon ou contrôle) Tampon de Lavage (dilué 1+19)}} \times 100 = \text{Avidité (\%)}$$

Note: Pour les échantillons avec des valeurs d'absorbance élevées (DO > 2.000), des dilutions appropriées doivent être utilisées.

9.3. Interprétation des résultats

Résultat	Avidité	Interprétation
Avidité-bas IgG	< 45 %	Un indice d'avidité inférieur à 45% indique une infection primaire acquise au cours des 2 derniers mois.
Zone grise	45 – 55 %	Aucune interprétation clinique ne peut pas être déduite d'un résultat équivoque. Il est recommandé de prélever un second échantillon dans un laps de temps approprié (par exemple 2 semaines) et de répéter les tests. Si le résultat du test répété est toujours dans la zone grise, des indications précises concernant le moment de l'infection ne peuvent pas être faites.
Avidité- Haute IgG	> 55 %	La présence avidité haute des IgG indique une infection ou une réinfection passée.

Le diagnostic d'une maladie infectieuse ne devrait pas être établi sur la base du résultat d'une seule analyse. Un diagnostic précis devrait prendre en considération l'histoire clinique, la symptomatologie ainsi que les données sérologiques. Les données sérologiques sont de valeur limitée dans le cas des patients immunodéprimés et des nouveaux-nés. Un résultat d'une haute avidité ne peut exclure la possibilité d'une infection récente.

9.3.1. Isotypes d'anticorps et l'Etat de l'infection

IgG	IgM	IgG- Avidité	Résultat probable
+	-	Bas	Vague, être nécessaire enquête supplémentaire
+	-	Haute	Indications d'une infection passée
+	+	Bas	Suggère une infection courante ou très récente
+	+	Haute	Suggère une infection passée avec une IgM persistante ou une réactivation de l'infection

10. PERFORMANCES DU TEST

Ces résultats s'appuient sur les groupes d'échantillons étudiés; il n'agit pas de caractéristiques techniques garanties.

Pour plus d'informations sur les performances du test s'il vous plaît contactez NovaTec Immundiagnostica GmbH.

10.1. Performances diagnostique

L'évaluation de la performance diagnostique du test d'avidité cytomégalovirus (CMV) IgG a été effectuée en comparaison avec des échantillons bien définis. L'accord relatif qui en a résulté était de 99,1%.

11. LIMITES DE LA TECHNIQUE

Une contamination bactérienne ou des cycles de congélation/décongélation répétés de l'échantillon peuvent affecter les valeurs d'absorption.

12. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- En accord avec l'article 1 paragraphe 2b de la directive européenne 98/79/EC, l'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro est destinée par le fabricant à garantir le bien-fondé, les performances et la sécurité du produit. Par conséquent, la procédure de test, l'information, les précautions et mises en garde de la notice d'emploi, doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces trousse avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de test, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont pas autorisés; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces motifs. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Uniquement pour diagnostic in vitro.
- Tous les matériaux d'origine humaine ou animale doivent être considérés et traités comme étant potentiellement infectieux.
- Tous les composants d'origine humaine utilisés pour la fabrication de ces réactifs ont été analysés et ont été trouvés non réactifs en Ag HBs, en anticorps anti-VHI 1 et 2 et en anticorps anti-VHC.
- Ne pas échanger les réactifs ou les barrettes provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de cette trousse.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des embouts de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée.
- Fermer soigneusement les flacons après utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Avant une nouvelle utilisation, vérifier les flacons de conjugué et de étalon/contrôle, déjà utilisés, pour exclure une contamination microbienne.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et les réactifs exactement au fond des puits sans éclabousser.
- Le ELISA est uniquement destinée à l'utilisation par un personnel compétent, maîtrisant parfaitement les techniques de travail.

12.1. Elimination des déchets

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet est réglementée par des lois et réglementations nationales et régionales. Contacter les autorités compétentes ou les sociétés de gestion des déchets pour obtenir des renseignements sur l'élimination des déchets dangereux.

13. INFORMATION POUR LES COMMANDES

Référence: ACMV7110 Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (48 Déterminations)

ITALIANO

1. INTRODUZIONE

La presenza di anticorpi IgG per Citomegalovirus indica la presenza d'infezione, ma non distingue tra infezione recente e passata. I anticorpi IgM anti-virus-specifici sono rilevati intorno al decimo giorno e picco a circa quattro settimane dopo l'infezione. Essi possono persistere per alcuni mesi dopo infezioni acute. Sulla base delle prove che l'anticorpo avidità aumenta gradualmente dopo l'esposizione a un immunogeno, avidità degli anticorpi IgG può essere utilizzato come marcatore per distinguere recente primaria dalle infezioni a lungo termine. Avidity descrive la forza di legame di un anticorpo specifico per suo antigene. Anticorpi IgG a bassa avidità indicano un'infezione primaria, mentre la presenza di anticorpi IgG con avidità punti alti di persistenza o la riattivazione d'infezione.

2. USO PREVISTO

Il Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA è un kit che ha lo scopo di indicare l'avidità delle IgG specifici per CMV nel siero o plasma umano (citrato, eparina) per distinguere tra infezione acuta e del passato.

3. PRINCIPIO DEL TEST

La determinazione immunoenzimatico qualitativa degli anticorpi specifici si basa sulla tecnica ELISA (d'inglese Enzyme-linked immunosorbent assay).

Micropiastre sono rivestiti con antigeni specifici che si legano agli anticorpi presenti nel campione (pipettare due volte). Dopo aver lavato i pozzetti per rimuovere tutto il materiale campione non legato, in un pozzetto è incubato con il reagente di avidità e la corrispondente bene con tampone di lavaggio. Il reagente di avidità rimuove gli anticorpi a bassa avidità dagli antigeni mentre quelli ad alta avidità sono ancora legati agli antigeni specifici. Dopo il secondo lavaggio per rimuovere il resto delle avidità reagenti e bassa avidità anticorpi, dopo il coniugato di perossidasi di rafano (HRP) è aggiunto. Questo coniugato si lega agli anticorpi catturati. In una terza fase di lavaggio coniugato, non legato è rimosso. Il complesso immunitario formato dal coniugato legato sarà evidenziato aggiungendo tetrametilbenzidina (TMB) substrato che dà una colorazione blu.

L'intensità di questa colorazione è direttamente proporzionale alla quantità di anticorpi specifici presenti nel campione. Acido solforico è aggiunto per bloccare la reazione. Questo produce un cambiamento di colore dal blu al giallo. Assorbanza a 450/620 nm viene letto utilizzando un lettore di micropiastre ELISA.

4. MATERIALI

4.1. Reagenti forniti

- **Avidità Reagente:** 1 flacone da 15 ml di soluzione di urea; colore azzurro; tappo nero; pronto all'uso.
- **Controllo Basso Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 flacone da 2 ml controllo (siero o plasma umano); colore giallo; tappo blu; pronto all'uso.
- **Controllo Alto Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 flacone da 2 ml controllo (siero o plasma umano); colore giallo; tappo rosso; pronto all'uso.

Per le sostanze potenziali pericolose si prega di leggere la scheda di dati di sicurezza.

4.2. Accessori forniti

- 1 istruzione per l'uso Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (Product Number: ACMV7110)
- 1 istruzione per l'uso Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (Product Number: CMVG0110)
- 1 flacone vuoto etichettato (bianco con il tappo bianco) per il Tampone di lavaggio; pronto per l'uso

5. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE

Conservare il kit a 2...8 °C. I reagenti aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta quando sono conservati a 2...8 °C.

6. PREPARAZIONE DEI REAGENTI

È molto importante, portare tutti i reagenti e campioni a temperatura ambiente (20...25 °C) e mescolare prima di iniziare il test.

6.1. Reagente Avidità

Se cristalli appaiono nel concentrato, riscaldare la soluzione a 37 °C per esempio in un bagnomaria. Mescolare bene prima della diluizione.

6.2. Tampone di lavaggio (20x conc.)

Si raccomanda di riempire con 15 ml di Tampone di lavaggio, pronto per l'uso, il flacone (s. 4.2) da utilizzare nel passaggio 5 della preparazione del test.

Nota: Pronto per uso, il tampone di lavaggio è stabile per 5 giorni a temperatura ambiente (20 ... 25 °C).

7. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per questo test si prega di usare campioni umani di un siero o plasma (citrato, eparina) **positivi per CMV IgG**.

Note: Per i campioni con alti valori di assorbanza ($OD > 2,000$), gli diluizioni appropriate devono essere utilizzati.

7.1. Diluizione dei campioni

Prima del test, diluire i campioni 1+100 con tampone diluente IgG. Per esempio, pipettare nelle provette 10 μ l di campione + 1 ml di tampone IgG e mescolare bene (Vortex).

8. PROCEDIMENTO

8.1. Preparazione del test

Leggere bene le istruzioni per l'uso prima di iniziare il teste. L'affidabilità dei risultati dipende dalla stretta aderenza le istruzioni per l'uso di prova come descritto. La seguente procedura è stata validata per l'esecuzione manuale. Per un'esecuzione su strumentazione automatica si consiglia di incrementare il numero di lavaggi da 3 a 5 volte e il volume del Tampone di lavaggio da 300 a 350 μ l per evitare effetti di lavaggio. Prestare attenzione al capitolo 12. Stabilire innanzitutto il piano di distribuzione e identificazione dei campioni e standards/controlli (è raccomandato determinare in duplicato) sullo schema della piastra fornito con il kit. Inserire i pozzetti necessari nel supporto.

Eeguire il test nell'ordine stabilito dalle istruzioni, senza ritardi.

Sul pipettaggio utilizzare puntali nuovi e puliti per ogni campione e standard/controllo.

Regolare l'incubatore a 37 ± 1 °C.

Per la determinazione dell'avidità è necessario pipettare due volte di standard/controlli e campioni diluiti.

1. Pipettare 100 μ l di standard/controllo e di campione diluito nei relativi pozzetti. Usare i pozzetti A1/A2 per il Bianco-substrato.
2. Coprire i pozzetti con la pellicola adesiva, fornita nel kit.
3. **Incubare 1 ora \pm 5 min a 37 ± 1 °C.**
4. Al termine dell'incubazione, togliere la pellicola ed aspirare il liquido dai pozzetti. Successivamente lavare i pozzetti tre volte con 300 μ l di tampone di lavaggio. Evitare che la soluzione trabocchi dai pozzetti. L'intervallo tra il lavaggio e l'aspirazione deve essere > 5 sec. Dopo il lavaggio picchiare delicatamente i pozzetti su una carta assorbente per togliere completamente il liquido, prima del passo successivo!
Attenzione: Il lavaggio è una fase molto importante. Da lavaggio insufficiente risulta una bassa precisione e risultati falsi.
5. Pipettare 100 μ l di reagente Avidità nei pozzetti B1, C1, D1, E1, ecc, escludendo il pozzetto A1.
Pipettare 100 μ l di tampone di lavaggio nei pozzetti B2, C2, D2, E2, ecc, escludendo il pozzetto A2.
6. **Incubare per esattamente 10 min a 37 ± 1 °C.**
7. Ripetere il lavaggio secondo punto 4.
8. Pipettare 100 μ l di Coniugato in tutti i pozzetti, escludendo quello con il Bianco-substrato (Blank) A1/A2.
9. **Incubare per 30 min a temperatura ambiente (20...25 °C).** Non esporre a fonti di luce diretta.
10. Ripetere il lavaggio secondo punto 4.
11. Pipettare 100 μ l di Soluzione Substrato TMB in tutti i pozzetti.
12. **Incubare precisamente per 15 min a temperatura ambiente (20...25 °C) al buio.** Un colore blu verifica a causa della reazione enzimatica.
13. Pipettare 100 μ l di Soluzione bloccante in tutti i pozzetti, nello stesso ordine della Soluzione Substrato TMB, in tal modo un cambiamento di colore dal blu al giallo si verifica.
14. Misurare l'assorbanza a 450/620 nm entro 30 min dopo l'aggiunta della Soluzione bloccante.

8.2. Misurazione

Regolare il fotometro per le micropiastre ELISA **a zero** usando il substrato-Bianco (Blank).

Se, per motivi tecnici, non è possibile regolare il fotometro a zero usando il Bianco-substrato, il valore de assorbanza de questo deve essere sottratto dai valori di l'assorbanza da tutti i valori delle altre assorbanze.

Misurare l'assorbanza di tutti i pozzetti a **450 nm** e inserire tutti i valori misurati nello schema della piastra.

È raccomandato fare le misurazioni delle onde bichrome (due colori). Utilizzando la lunghezza d'onda de 620 nm come misura di riferimento.

Dove sono state misurate in doppio, calcolare **la media delle assorbanze**.

9. RISULTATI

9.1. Validazione del test

Il test è valido se risponde ai prossimi criteri:

- **Substrato Bianco (Blank):** Valore di assorbanza < 0,100
- **Controllo Basso:** Avidità < 45 %
- **Controllo Alto:** Avidità > 55 %

Se non sono soddisfatti questi criteri, il test non è valido e deve essere ripetuto.

9.2. Calcolo dei risultati

Per ogni campione o controllo paziente calcolare il rapporto tra l'assorbanza del pozzo in cui è stato pipettato il Reagente di avidità e l'assorbanza del pozzo in cui è stato pipettato il tampone di lavaggio moltiplicato per 100:

$$\frac{\text{Valore di assorbanza (campioni ou controllo) Reagente di Avidità}}{\text{Valore di assorbanza (campioni ou controllo) Tamponé di Lavaggio (diluire 1+19)}} \times 100 = \text{Avidità (\%)}$$

Note: Per i campioni con alti valori di assorbanza (OD > 2,000), gli diluizioni appropriate devono essere utilizzati.

9.3. Interpretazione dei risultati

Risultato	Avidità	Interprétation
Avidità-bassa IgG	< 45 %	Un indice di avidità inferiore al 45% indica un'infezione primaria acquisita negli ultimi 2 mesi
Zona grigia	45 – 55 %	Nessuna interpretazione clinica può essere dedotta da un risultato equivoco. Si consiglia di prendere un secondo campione entro un congruo periodo di tempo (ad esempio 2 settimane) e ripetere il test. Se il risultato del test ripetuto è ancora nella zona grigia, precisazioni riguardanti momento dell'infezione non possono essere fatte. La presenza di alta avidità delle IgG indica un'infezione passata o una reinfezione.
Avidità- alta IgG	> 55 %	La presenza di alta avidità delle IgG indica un'infezione passata o una reinfezione.

La diagnosi di una malattia infettiva non deve essere fatta soltanto sulla risultanza di un unico test. È importante considerare anche l'anamnesi ed i sintomi del paziente. I risultati del test da pazienti immunosoppressi e neonati hanno un valore limitato. Un risultato di alta avidità non può escludere la possibilità di un'infezione recente.

9.3.1. Isotipi degli anticorpi e Stato dell'infezione

IgG	IgM	IgG- Avidità	Risultato probabile
+	-	Bassa	Vago, necessarie ulteriori indagini
+	-	Alta	Indicativi di un'infezione passata
+	+	Bassa	Suggerisce un'infezione in corso o molto recente.
+	+	Alta	Suggerisce un'infezione persistente passata con IgM o la riattivazione di infezione

10. CARATTERISTICHE DEL TEST

I risultati si riferiscono al gruppo di campioni investigato; questi non sono specifiche garantite.

Per ulteriori informazioni su caratteristiche del test, si prega, di contattare NovaTec Immundiagnostica GmbH.

10.1. Performance diagnostica

La valutazione della performance diagnostica del test Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG è stata eseguita in confronto ai campioni ben definiti. L'accordo relativo risultante era 99,1%.

11. LIMITAZIONI

Una contaminazione da microorganismi o ripetuti cicli di congelamento-scongelo possono alterare i valori delle assorbanze.

12. PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- In ottemperanza all'articolo 1, paragrafo 2 della direttiva Europea 98/79/EC, l'uso dei diagnostici medici in vitro è inteso da parte del produttore ad assicurare la congruenza, le prestazioni e la sicurezza del prodotto. Di conseguenza la procedura analitica, le informazioni, le precauzioni e le avvertenze contenute nelle istruzioni per l'uso devono essere seguite scrupolosamente. L'uso dei kit con analizzatori e attrezzature similari deve essere previamente convalidato. Qualunque cambiamento nello scopo, nel progetto, nella composizione o struttura e nella procedura analitica, così come qualunque uso dei kit in associazione ad altri prodotti non approvati dal produttore non è autorizzato; l'utilizzatore stesso è responsabile di questi eventuali cambiamenti. Il produttore non è responsabile per falsi risultati e incidenti che possano essere causati da queste ragioni. Il produttore non è responsabile per qualunque risultato ottenuto attraverso esame visivo dei campioni dei pazienti.
- Solo per uso diagnostico in-vitro.
- Tutti i materiali di origine umana o animale devono essere considerati potenzialmente contagiosi e infettivi.
- Tutti i componenti di origine umana sono stati trovati non reattivi con Anti-HIV-Ab, Anti-HCV-Ab e HBsAg.
- Non scambiare reagenti e micropiastre di lotti diversi.
- Non utilizzare reagenti di altri produttori insieme con i reagenti di questo kit.
- Non usare dopo la data di scadenza.
- Utilizzare soltanto punte per pipette, distributori, e articoli da laboratorio puliti.
- Non scambiare i tappi dei flaconi, per evitare contaminazione crociata.
- Richiudere i flaconi immediatamente dopo l'uso per evitare la vaporizzazione e contaminazione.
- Una volta aperti e dopo relativo stoccaggio verificare i reagenti per una loro eventuale contaminazione prima dell'uso.
- Per evitare contaminazioni crociate e risultati erroneamente alti pipettare i campioni e reagenti con molta precisione nei pozzetti senza spruzzi.
- Il ELISA è previsto soltanto per essere impiegato da parte di personale specializzato che conosce perfettamente le tecniche di lavoro.

12.1. Smaltimento

In genere tutte le sostanze chimiche sono considerati rifiuti pericolosi. Lo smaltimento è regolato da leggi nazionali. Per ulteriori informazioni contattare l'autorità locale.

13. INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Numero del prodotto: ACMV7110 Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (48 determinazioni)

ESPAÑOL

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de anticuerpos IgG contra Citomegalovirus indica la ocurrencia de la infección, pero no distingue entre infección reciente y pasada. Los anticuerpos IgM específicos de virus se detectan en torno al decimo día y pico a las cuatro semanas después de la infección. Pueden persistir durante varios meses después de infecciones agudas. Basándose en la evidencia de que la avidéz de los anticuerpos aumenta gradualmente después de la exposición a un inmunógeno, la avidéz de los anticuerpos IgG puede usarse como un marcador para distinguir las infecciones primarias y las infecciones de largo plazo. La avidéz describe la fuerza de unión de un anticuerpo específico a su antígeno. Los anticuerpos IgG de baja avidéz indican una infección primaria, mientras que la presencia de anticuerpos IgG con alta avidéz indica la persistencia o reactivación de la infección.

2. USO PREVISTO

El enzimoimmunoensayo Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA se pretende indique la Avidéz de IgG específica de CMV en suero o plasma humano (citrato, heparina) para diferenciar entre infección aguda y pasada.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

La determinación inmunoenzimático cualitativa de anticuerpos específicos se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

Las microplacas están recubiertas con antígenos específicos unen a los anticuerpos de la muestra (pipeteo dos veces). Después de lavar los pocillos para eliminar todo el material de muestra no unido, se incuba un pocillo con reactivo de avidéz y el pocillo correspondiente con tampón de lavado. El reactivo de avidéz elimina los anticuerpos de baja avidéz de los antígenos mientras que los de alta avidéz todavía están unidos a los antígenos específicos. Después de la segunda etapa de lavado para eliminar el resto del reactivo de avidéz y los anticuerpos de baja avidéz, el conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) se añade. Este conjugado se une a los anticuerpos capturados. En una tercera etapa de lavado se retira el conjugado no unido. El complejo inmune formado por el conjugado unido se visualizó añadiendo substrato tetrametilbencidina (TMB), que da un producto de reacción azul.

La intensidad de este producto es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos en la muestra. se añade ácido sulfúrico para detener la reacción. Esto produce un cambio de color de azul a amarillo. La extinción a 450/620 nm se mide con un lector de microplacas ELISA.

4. MATERIALES

4.1. Reactivos suministrados

- **Reactivo de Avidéz:** 1 botella que contiene 15 ml de una solución de urea; de color azul; listo para ser utilizado; tapa negra
- **Control Bajo Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 botella de 2 ml control (suero o plasma humano); color amarillo; tapa azul; listo para ser utilizado.
- **Control Alto Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 botella de 2 ml control (suero o plasma humano); color amarillo; tapa rojo; listo para ser utilizado.

Para sustancias potencialmente peligrosas por favor revise la ficha de datos de seguridad.

4.2. Accesorios suministrados

- 1 instrucciones de uso Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (ACMV7110)
- 1 instrucciones de uso Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (CMVG0110)
- 1 botella vacía etiquetada (blanca con tapa blanca) para Tampón de Lavado, listo para usar

5. ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

Almacene el kit a 2...8 °C. Los reactivos abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacena a 2...8 °C.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Es muy importante llevar Todos los reactivos y las muestras para a la temperatura ambiente (20...25 °C) y mezclarlos antes de serem utilizados!

6.1. Reactivo de avidéz

Caso aparecen cristales en el concentrado, calentar la solución a 37 °C, por ejemplo, en un baño María. Mezclar bien antes de la dilución.

6.2. Tampón de lavado (20x conc.)

Se recomienda llenar con 15 ml de tampón de lavado, listo para usar, la botella suministrada (punto 4.2) para usarla en el paso 5 de la preparación del ensayo.

Nota: El tampón de lavado, listo para usar, es estable durante 5 días a temperatura ambiente (20 ... 25 °C).

7. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Usar com este ensaio, muestras humanas de suero o plasma (citrate, heparina) **positiva para CMV IgG**.

Note: Para muestras con altos valores de l'extinción (DO > 2.000), diluciones apropiadas deben ser utilizados.

7.1. Dilución de las muestras

Antes del ensayo, las muestras tienen que estar diluidas en relación 1 + 100 con el tampón de dilución para la muestra de IgG, p.e. 10 µl de la muestra con 1 ml de tampón IgG, mezclar bien con la mezcladora Vortex.

8. PROCEDIMIENTO

8.1. Preparación del ensayo

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones de uso del ensayo **antes** de realizarlo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. El siguiente procedimiento es válido solamente para el método manual. Si se realiza el ensayo en los sistemas automáticos de ELISA es aconsejable elevar el número de lavado de de 3 a 5 veces y el volumen de Tampón de lavado de 300 µl a 350 µl para excluir efectos de lavado. Preste atención al capítulo 12. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los estándares/controles (recomienda determinar en doble) en lo esquema de la placa suministrada. Usar la cantidad necesaria de tiras o pozos e insertarlos en el soporte.

Realizar el ensayo en el orden indicado y sin retraso.

Para cada paso de pipeteado en los estándares/controles y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso.

Graduar la incubadora a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Para la determinación de la avidéz se necesita pipeteo dos veces de estándares/controles y muestras diluidas.

1. Pipetear 100 µl de estándares/controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar los pocillos A1/A2 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. **Incubar 1 h \pm 5 min a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.**
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300µl de la Tampón de lavado. Evitar el rebosamiento de los pocillos. El intervalo entre lavado y aspiración debe ser > 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente.
Nota: El lavado es muy importante! Un mal lavado insuficiente provoca una baja precisión y resultados falsamente elevados!
5. Dispensar 100 µl de Reactivo de avidéz en los pocillos B1, C1, D1, E1, etc., excepto para el pocillo A1. Dispense 100 µl de Tampón de lavado en los pocillos B2, C2, D2, E2, etc., excepto para el pocillo A2.
6. **Incubar exactamente por 10 min a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.**
7. Repetir el lavado como en el paso numero 4.
8. Pipetar 100 µl de conjugado en cada pocillo con excepción delos blanco substrato A1/A2.
9. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente ($20...25^\circ\text{C}$).** Evitar la luz solar directa.
10. Repetir el lavado como en el paso numero 4.
11. Pipetar 100 µl de Solución de sustrato de TMB en todos los pocillos.
12. **Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente ($20...25^\circ\text{C}$).** Un color azul se produce en las muestras positivas debido a la reacción enzimática
13. Pipetear en todos los pocillos 100 µl de la solución de parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con el Solución de sustrato de TMB, por lo tanto un cambio de color de azul a amarillo se produce.
14. Medir la extinción con 450/620 nm en un periodo de 30 min después de añadir la solución de parada.

8.2. Medición

Ajustar el lector de microplaca (fotómetro) Elisa **al cero** utilizando **el Blanco**.

Si por razones técnicas el lector de ELISA no se pueder ajustar a cero utilizando el Blanco, el valor de la absorbancia desto debe ser sustraído de los demás valores de absorbancia medidos con el fin de obtener resultados fiables!

Medir la **extinción** de todos los pocillos con **450 nm** y anotar los resultados de los estándares/controles y de las muestras en la **esquema de la placa**.

Es aconsejable realizar la medición **bicromática** a una longitud de onda de referencia de 620 nm.

Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular **el promedio de los valores de extinción** de los pocillos correspondientes.

9. CALCULO DE LOS RESULTADOS

9.1. Criterios de validez del ensayo

El ensayo es válido si se cumplen los siguientes criterios:

- **Blanco:** valor de l'extinció **< 0,100**
- **Control Bajo:** Avidéz (%) **< 45 %**
- **Control Alto:** Avidéz(%) **> 55 %**

Si estos criterios no se cumplen, la prueba no es válida y deberá repetirse.

9.2. Calculo del valor de la medición

Para cada muestra de paciente o el control calcular la relación entre l'extinció del pocilo en el se pipeteó el Reactivo de Avidéz y l'extinció del pocillo en el se pipeteó el tampón de lavado multiplicado por 100:

$$\frac{\text{Valor de la extinció (muestra ou control) Reagente de Avidéz}}{\text{Valor de l'extinció (muestra ou control) Tampon de Lavado (diluido 1+19)}} \times 100 = \text{Aviditez (\%)}$$

Valor de l'extinció (muestra ou control) Tampon de Lavado (diluido 1+19)

Note: Para muestras con altos valores de l'extinció (DO > 2.000), diluciones apropiadas deben ser utilizados.

9.3. Interpretación de los resultados

Résultat	Avidité	Interprétation
Avidéz-baja IgG	< 45 %	Un índice de avidéz inferior al 45% indica una infección primaria adquirida en los últimos 2 meses
Zona intermedia	45 – 55 %	No se puede deducir una interpretación clínica de un resultado equívoco. Se recomienda tomar una segunda muestra dentro de un período de tiempo apropiado (por ejemplo, 2 semanas) y repetir las pruebas. Si el resultado de la prueba repetida es de nuevo en la zona intermedia, no se pueden hacer afirmaciones precisas con respecto al tiempo de infección. La presencia de IgG de alta avidéz indica una infección o reinfección pasada.
Avidéz- alta IgG	> 55 %	La presencia de IgG de alta avidéz indica una infección o reinfección pasada.

El diagnóstico de una infección no solamente se debe basar en el resultado del ensayo.
Es necesario considerar la anamnéis y la sintomatología del paciente junto al resultado serológico.
Estos resultados sólo tienen valor restringido en pacientes inmunodeprimidos o en neonatos.

9.3.1. Isotipos de anticuerpo y Estado de la Infección

IgG	IgM	IgG- Avidéz	Résultat probable
+	-	Baja	Vague, necesaria investigación adicional
+	-	Alta	Indicativos de una infección pasada
+	+	Baja	Sugiere una infección actual o muy reciente
+	+	Alta	Sugiere una infección previa con IgM persistente o reactivación de la infección

10. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

Los resultados están basados en lo grupo de pruebas investigado; no se trata de especificaciones garantizadas.

Para obtener más información sobre las características del ensayo, por favor, entre en contacto NovaTec Immundiagnostica GmbH.

10.1. Desempeño del Diagnóstico

La evaluación del desempeño diagnóstico del ensayo Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG fue realizada en comparación con muestras bien definidas. El acuerdo relativo resultante fue del 99,1%.

11. LIMITACIONES DEL ENSAYO

Una contaminación de las muestras con bacterias, o una congelación y descongelación repetida pueden producir cambios en los valores de la extinció.

12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- En cumplimiento con el artículo 1 párrafo 2b de la directiva europea 98/79/EC, la utilización de sistemas médicos para diagnóstico in vitro tiene la intención por parte del fabricante de asegurar la adecuación, realizaciones y seguridad del producto. Por lo tanto, el procedimiento, la información, las precauciones y los avisos de las instrucciones de uso han de ser seguidas estrictamente. La utilización de equipos con analizadores y equipamiento similar tiene que ser validada. No se autorizan cambios en el diseño, composición y procedimiento, así como cualquier utilización en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario debe hacerse responsable de estos cambios. El fabricante no responderá ante falsos resultados e incidentes debidos a estas razones. El fabricante no responderá ante cualquier resultado por análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Solo para diagnóstico in vitro.
- Todos los materiales de origen humano o animal deberán ser considerados y tratados como potencialmente infecciosos.
- Todos los componentes de origen humano han sido examinados y resultaron no reactivos a anticuerpos contra el VIH, VHC y HbsAG.
- No intercambiar reactivos y placas de microtítulo de cargas diferentes.
- No usar reactivos de otro fabricante para este ensayo.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Sólo usar recambios de pipetas, dispensadores y materiales de laboratorio limpios.
- No intercambiar las tapas de los diferentes reactivos, para evitar la contaminación cruzada.
- Para evitar la evaporación y una contaminación microbiana, cierre inmediatamente las botellas después de usarlas.
- Después de abrirlas y posterior almacenaje, asegurarse de que no existe contaminación microbiana antes de seguir usándolas.
- Para evitar contaminaciones cruzadas y resultados erróneamente aumentados, Pipetear cuidadosamente las muestras y los reactivos en los pocillos sin salpicar.
- El ELISA está pensado exclusivamente para su uso por personal especializado que domine perfectamente las técnicas de trabajo.

12.1. Indicaciones para la eliminación de residuos

Por regla general, los productos químicos y las preparaciones son residuos peligrosos. Su eliminación está sometida a las leyes y los decretos nacionales sobre la eliminación de residuos. Las autoridades informan sobre la eliminación de residuos peligrosos.

13. INFORMACIONES PARA PEDIDOS

Nº del producto: ACMV7110 Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (48 determinaciones)

PORTUGUÊS

1. INTRODUÇÃO

A presença de anticorpos IgG contra Citomegalovírus indica a ocorrência da infecção, mas não distingue entre infecção recente e passada. Os anticorpos IgM específicos de vírus são detectados por volta do décimo dia e pico a cerca de quatro semanas após a infecção. Podem persistir por vários meses após infecções agudas. Com base na evidência de que a avididade do anticorpo aumenta gradualmente após a exposição a um imunogénio, a avididade dos anticorpos IgG pode ser utilizada como um marcador para distinguir infecções primárias de infecções prolongadas. A avididade descreve a força de ligação de um anticorpo específico ao seu antígeno. Os anticorpos IgG de baixa avididade indicam uma infecção primária, enquanto que a presença de anticorpos IgG com alta avididade aponta para a persistência ou reativação da infecção.

2. UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O kit Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA destina-se à determinação da avididade de IgG específica para CMV em soro ou plasma humano (citrato, heparina) para diferenciar entre infecção aguda e passada.

3. PRINCÍPIO DO ENSAIO

A determinação imunoenzimática qualitativa de anticorpos específicos é baseada na técnica de ELISA (do inglês Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

As microplacas são revestidas com antígenos específicos que se ligam aos anticorpos correspondentes da amostra (pipetar duas vezes). Após lavagem dos poços, para remover todo o material de amostra não ligado, em um poço é incubado com reagente de avididade e o poço correspondente com tampão de lavagem. O reagente de avididade remove os anticorpos de baixa avididade dos antígenos enquanto que os de alta avididade estão ainda ligados aos antígenos específicos. Após o segundo passo de lavagem para remover o resto do reagente de avididade e anticorpos de baixa avididade, depois o conjugado de peroxidase de rábano (HRP) é adicionado. Este conjugado se liga aos anticorpos capturados. Num terceiro passo de lavagem o conjugado não ligado é removido. O complexo imune formado pelo conjugado ligado é visualizado por adição de substrato de tetrametilbenzidina (TMB), o que dá um produto de reacção azul.

A intensidade deste produto é proporcional à quantidade de anticorpos específicos da amostra. O ácido sulfúrico é adicionado para parar a reacção. Isso produz uma mudança de cor de azul para amarelo.

Absorvância a 450/620 nm é lida utilizando um leitor de microplacas ELISA.

4. MATERIAIS

4.1. Reagentes fornecidos

- **Reagente de Avididade:** 1 frasco contendo 15 ml de uma solução de úrea; de cor azul; pronto a usar; tampa preta.
- **Controle Baixo Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 frasco contendo 2 ml controle (soro ou plasma humanos); de cor amarela; pronto a usar; tampa azul.
- **Controle Alto Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG:** 1 frasco contendo 2 ml controle (soro ou plasma humanos); de cor amarela; pronto a usar; tampa vermelha.

Para substâncias potencialmente perigosas verifique a ficha de dados de segurança.

4.2. Materiais fornecidos

- 1 Instruções de uso Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (ACMV7110)
- 1 Instruções de uso Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (CMVG0110)
- 1 frasco vazio e etiquetado (branco com tampa branca) para Tampão de Lavagem, pronto para uso

5. ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO

Armazene o kit a 2 ... 8 °C. Os reagentes abertos são estáveis até o prazo de validade impresso no rótulo quando armazenado a 2 ... 8 °C.

6. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

É muito importante deixar todos os reagentes e amostras estabilizar à temperatura ambiente (20...25 °C) e misturá-los antes de iniciar o teste!

6.1. Reagente de Avididade

Caso apareça cristais no concentrado, aquecer a solução a 37 °C por exemplo, em banho Maria. Misture bem antes da diluição.

6.2. Tampão de lavagem (conc. 20x)

Recomenda-se para preencher com 15 ml de tampão lavagem, prontos para o uso, fornecido na garrafa (s. 4.2) para usá-lo na etapa 5 da preparação para o teste.

Nota: Pronto a usar tampão de lavagem é estável durante 5 dias à temperatura ambiente (20 ... 25 °C).

7. COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Usar com este teste amostras humanas de soro ou plasma (citrato, heparina) **positivas para CMV IgG**.

Note: Para as amostras com valores de Absorvância (DO > 2,000), diluição apropriadas devem ser utilizadas.

7.1. Diluição das amostras

Antes de testar todas as amostras devem ser diluídas 1 + 100 com Diluente de Amostra IgG. Dispensar 10 µl de amostra e 1 ml de Diluente de Amostra IgG em tubos para obter uma diluição 1 + 100 e misturar meticulosamente com um vortex.

8. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

8.1. Preparação do Teste

Por favor, ler atentamente as instruções de uso **antes** de realizar o teste. A fiabilidade dos resultados depende da adesão estrita ao as instruções de uso, conforme descritas. O procedimento de ensaio a seguir está validado apenas para o procedimento manual. Se o teste for realizado em sistemas automáticos para teste ELISA é recomendável aumentar os passos de lavagem de três para cinco e o volume do Tampão de lavagem de 300 µl para 350 µl para evitar efeitos de lavagem. Preste atenção ao capítulo 12. Antes de iniciar o teste, o plano de distribuição e identificação de todas as amostras e calibradores/controles (é recomendado determinar em duplicidade) deve ser cuidadosamente estabelecido no Layout da placa fornecida no kit. Seleccionar o número necessário de tiras ou poços e inserir os mesmos no suporte.

Realizar todas as etapas do teste na ordem indicada e sem atrasos significativos.

Na pipetagem deve ser utilizada uma ponta limpa e descartável para dispensar cada controle e amostra.

Ajustar a incubadora para 37 ± 1 °C.

Para determinação de avidéz é necessário pipetagem dupla de calibradores/controles e amostras diluídas.

1. Dispensar 100 µl dos calibradores/controles e das amostras diluídas nos poços respectivos. Deixar os poços A1/A2 vazios para o branco substrato.
2. Cobrir os poços com a película fornecida no kit.
3. **Incubar durante 1 hora \pm 5 min a 37 ± 1 °C.**
4. Quando terminar a incubação, remover a película, aspirar o conteúdo dos poços e lavar cada poço três vezes com 300 µl de Tampão de lavagem. Evitar que os poços de reacção transbordem. O intervalo entre a lavagem e a aspiração deve ser > 5 seg. No final, retirar cuidadosamente o fluido restante batendo delicadamente as tiras sobre papel absorvente, antes da próxima etapa!
Nota: A lavagem é muito importante! Lavagem insuficiente resulta em baixa precisão e falsos resultados.
5. Dispensar 100 µl de Reagentes de Avidéz nos poços B1, C1, D1, E1, etc, excepto no poço do Branco substrato A1. Dispensar 100 µl de Tampão de lavagem nos poços B2, C2, D2, E2, etc, excepto no poço do Branco substrato A2.
6. **Incubar por exactamente 10 min a 37 ± 1 °C.**
7. Repetir a etapa 4.
8. Pipetar 100 µl de conjugado em cada poço, excepto nos poços do Branco substrato A1/A2.
9. **Incubar durante 30 min à temperatura ambiente ($20...25$ °C).** Não expor diretamente à luz solar.
10. Repetir a etapa 4.
11. Dispensar 100 µl de Solução Substrato TMB em todos os poços.
12. **Incubar durante exactamente 15 min à temperatura ambiente ($20...25$ °C) e no escuro.** A cor azul devido a uma reacção enzimática.
13. Dispensar 100 µl de Solução de bloqueio em todos os poços, pela mesma ordem e com a mesma velocidade a que foi dispensada a Solução Substrato TMB, desse modo uma mudança de cor de azul para amarelo ocorre.
14. Medir a absorvância a 450/620 nm dentro de 30 min após a adição da solução de bloqueio.

8.2. Medição

Ajustar o Leitor de Microplacas ELISA a **zero** usando o **Branco substrato**.

Se - devido à razões técnicas – o leitor ELISA não puder ser ajustado a zero usando o Branco substrato, valor da absorvância deste deve ser subtraído de todos os outros valores de absorvância medidos de forma a obter resultados fiáveis!

Medir a absorvância de todos os poços a **450 nm** e registar os valores da absorvância para cada calibrador/controle e amostra no Layout da placa.

É recomendado fazer a medição **dicromática** usando como referência um comprimento de onda de 620 nm.

Se determinações duplas foram realizadas, calcular **os valores médios de absorvância**.

9. RESULTADOS

9.1. Critérios de validação do ensaio

Para que um ensaio seja considerado válido, devem ser cumpridos os seguintes critérios:

- **Branco substrato:** Valor de Absorvância $< 0,100$
- **Controle Baixo:** Avidéz (%) < 45 %
- **Controle Alto:** Avidéz (%) > 55 %

Se estes critérios não forem cumpridos, o teste não é válido e deve ser repetido.

9.2. Cálculo dos Resultados

Para cada amostra de paciente ou controle, calcular a razão entre a absorvância do poço no qual foi dispensado Reagente Avidex e a absorvância do poço no qual foi dispensado Tampão de Lavagem multiplicado por 100:

$$\frac{\text{Valor de Absorvância (amostra ou controle) Reagente de Avidex}}{\text{Valor de Absorvância (amostra ou control) Tampão de Lavagem (diluido 1+19)}} \times 100 = \text{Avidex (\%)}$$

Note: Para as amostras com valores de Absorvância (DO > 2,000), diluição apropriadas devem ser utilizadas.

9.3. Interpretação dos Resultados

Resultado	Avidex	Interpretação
Avidex-baixa IgG	< 45 %	Um índice de avidex inferior a 45% indica uma infecção primária adquirida nos últimos 2 meses
Zona cinzenta	45 – 55 %	Nenhuma interpretação clínica pode ser deduzida de um resultado equívoco. Recomenda-se tomar uma segunda amostra dentro de um período de tempo apropriado (por exemplo 2 semanas) e repetir o teste. Se o resultado do teste repetido estiver novamente dentro da zona cinzenta, não podem ser feitas declarações precisas sobre o tempo de infecção. A presença de IgG de alta avidex indica uma infecção ou reinfecção passada.
Avidex-alta IgG	> 55 %	A presença de IgG de alta avidex indica uma infecção ou reinfecção passada.

O diagnóstico de uma doença infecciosa não deve ser estabelecido com base num único resultado do teste. Um diagnóstico preciso deve ter em consideração a história clínica, a sintomatologia bem como dados serológicos. Em pacientes imunossuprimidos e recém-nascidos os dados serológicos têm apenas valor restrito. Um resultado de alta avidex não pode excluir a possibilidade de uma infecção recente.

9.3.1. Isotipos de anticorpos e Estado da Infecção

IgG	IgM	IgG-Avidex	Resultado provável
+	-	Baixa	Vago, é necessário prosseguir a investigação
+	-	Alta	Indicativos de uma infecção passada
+	+	Baixa	Sugere uma infecção atual ou muito recente
+	+	Alta	Sugere uma infecção passada com IgM persistente ou reativação da infecção

10. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

Os resultados referem-se aos grupos de amostras investigados; estas não são especificações garantidas.

Para mais informações sobre as características de desempenho específicas, por favor, entre em contato NovaTec Immundiagnostica GmbH.

10.1. Performa Diagnóstica

A avaliação do desempenho diagnóstico do ensaio de IgG de Avidity Cytomegalovirus (CMV) foi realizada em comparação com amostras bem definidas. O acordo relativo resultante foi de 99,1%.

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Contaminação bacteriana ou a repetição de ciclos de congelação-descongelação do espécime podem afectar os valores da absorvância.

12. PRECAUÇÕES E AVISOS

- Em cumprimento com o artigo 1 parágrafo 2b da directiva Europeia 98/79/EC o uso de dispositivos médicos para diagnóstico in vitro destina-se segundo o fabricante a assegurar adequabilidade, desempenhos e segurança do produto. Portanto o procedimento do teste, as informações, as precauções e avisos nas instruções para utilização têm de ser rigorosamente seguidas. O uso de kits de teste com analisadores e equipamento similar tem de ser validado. Qualquer alteração no desenho, composição e procedimento do teste bem como qualquer utilização em combinação com outros produtos não aprovados pelo fabricante não estão autorizados; o próprio utilizador é responsável por tais alterações. O fabricante não é legalmente responsável por resultados falsos e incidentes originados por estes motivos. O fabricante não é legalmente responsável por quaisquer resultados obtidos por análise visual das amostras dos pacientes.
- Apenas para uso no diagnóstico in-vitro.
- Todos os materiais de origem humana ou animal devem ser considerados e tratados como potencialmente infectantes.
- Todos os componentes de origem humana usados para a produção destes reagentes foram testados para anticorpos anti-HIV, anticorpos anti-HCV e HBsAg e foram considerados não-reactivos.
- Não trocar e juntar reagentes ou tiras de lotes de produção diferentes.
- nenhuns reagentes de outros fabricantes devem ser usados juntamente com reagentes deste kit de teste.
- Não usar reagentes após a data de validade indicada no rótulo.
- Usar apenas pontas de pipeta, dispensadores e material de laboratório limpos.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes para evitar contaminação cruzada.
- Fechar firmemente os frascos dos reagentes imediatamente após a utilização para evitar evaporação e contaminação microbiana.
- Após a primeira abertura e armazenamento subsequente verificar se existe contaminação microbiana dos frascos do conjugado e dos calibradores/controles antes de utiliza-los novamente.
- Para evitar contaminação-cruzada e resultados falsamente elevados, pipetar as amostras dos pacientes e dispensar o reagentes precisamente nos poços sem salpicar.
- O ELISA foi desenhado apenas para pessoal qualificado e que esteja familiarizado com boas práticas laboratoriais

12.1. Considerações de Eliminação

Resíduos de químicos e preparações são geralmente considerados como resíduos perigosos. A eliminação deste tipo de resíduos está regulada por leis e normativas nacionais e regionais. Contactar as autoridades locais ou empresas de gestão de resíduos as quais podem aconselhar sobre como eliminar resíduos perigosos.

13. INFORMAÇÃO DE PEDIDO

Prod. No.: ACMV7110

Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG ELISA (48 determinações)













**BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA /
BIBLIOGRAFIA**

Prince, Harry E.; Lape-Nixon, Mary (2014): Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy. In *Clinical and vaccine immunology : CVI* 21 (10), pp. 1377–1384. DOI: 10.1128/CVI.00487-14.

Revello, Maria Grazia; Gerna, Giuseppe (2002): Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. In *Clinical Microbiology Reviews* 15 (4), pp. 680–715. DOI: 10.1128/CMR.15.4.680-715.2002.

Zaia, John A.; Sissons, J.G. Patrick; Riddell, Stanley; Diamond, Don J.; Wills, M. R.; Carmichael, A. J. et al. (2000): Status of Cytomegalovirus Prevention and Treatment in 2000. In *Hematology. American Society of Hematology. Education Program* 2000 (1), pp. 339–355. DOI: 10.1182/asheducation-2000.1.339.

SYMBOLS KEY / SYMBOLSCHLÜSSEL / EXPLICATION DES SYMBOLES / LEGENDA / SIMBOLOS / TABELA DE SIMBOLOS

	Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por / Fabricado por
	In Vitro Diagnostic Medical Device / In Vitro Diagnosticum / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Diagnostico in vitro / Producto para diagnóstico In vitro / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro
	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de lot / Lotto / Número de lote / Número de lote
	Expiration Date / Verfallsdatum / Date de péremption / Scadenza / Fecha de caducidad / Data de Validade
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Température de conservation / Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de Armazenamento
	CE Mark / CE-Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE / Marca CE
	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence du catalogue / Numero di codice / Número de Catálogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Arbeitsanleitung beachten / Consulter la notice d'utilisation / Consultare le istruzioni per l' uso / Consulte las Instrucciones de Uso / Consultar as Instruções de Utilização
	Avidity Reagent / Aviditätsreagenz / Réactif d'Avidité / Reagente di Avidità / Reactivo de Avidéz / Reagente de Avidéz
	Control Low / Kontrolle Niedrig / Contrôle Bas / Controllo Basso / Control Bajo/ Controle Baixo
	Control High/ Kontrolle Hoch / Contrôle Haut / Controllo Alto / Control Alto / Controle Alto
	Contains sufficient for "n" tests / Ausreichend für "n" Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para "n" tests / Conteúdo suficiente para "n" testes

SUMMARY OF TEST PROCEDURE / KURZANLEITUNG TESTDURCHFÜHRUNG / RÉSUMÉ DE LA PROCEDURE DE TEST / SCHEMA DELLA PROCEDURA / RESUMEN DE LA TÉCNICA / RESUMO DO PROCEDIMENTO DE TESTE

SCHEME OF THE ASSAY

Avidity Cytomegalovirus (CMV) IgG

Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.
Establish the distribution and identification plan for all samples and standards/controls on the plate layout supplied in the kit.
Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Assay Procedure

	Substrate Blank A1/A2	Avidity Control Low B1	Avidity Control Low B2	Avidity Control High C1	Avidity Control High C2	Sample (diluted 1+100) e. g. D1	Sample (diluted 1+100) e. g. D2
Avidity Control Low	-	100 µl	100 µl	-	-	-	-
Avidity Control High	-	-	-	100 µl	100 µl	-	-
Sample (diluted 1+100)	-	-	-	-	-	100 µl	100 µl
Cover wells with foil Incubate for 1 h at 37 °C Wash each well three times with 300 µl of Washing Buffer							
Avidity Reagent	-	100 µl	-	100 µl	-	100 µl	-
Washing Buffer	-	-	100 µl	-	100 µl	-	100 µl
Incubate for exactly 10 min at 37°C Wash each well three times with 300 µl of Washing Buffer							
Conjugate	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Incubate for 30 min at room temperature (20...25 °C) Do not expose to direct sunlight Wash each well three times with 300 µl of Washing Buffer							
TMB Substrate solution	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25 °C) in the dark							
Stop Solution	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Photometric measurement at 450 nm (reference wavelength: 620 nm)							

NovaTec Immundiagnostica GmbH

Waldstraße 23 A6
63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 (0) 6074-48760
Email: info@NovaTec-ID.com
Internet: www.NovaTec-ID.com

Fax: +49 (0) 6074-487629

ACMV7110eng,dt,fr,it,es,port-09012018-JH-gr.Lot092