

DotDiver Anti-Gangliosid IgG

REF 50381

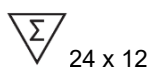
Test immunologico in linea per la determinazione di anticorpi IgG contro i gangliosidi nel siero umano



GA Generic Assays GmbH
Ludwig-Erhard-Ring 3
15827 Blankenfelde-Mahlow OT Dahlewitz
Germania

Telefono: +49 33708 9286 0
Fax: +49 33708 4417 25

info@genericassays.com
www.genericassays.com



1 Destinazione d'uso

Il DotDiver Anti-Gangliosid IgG è un immunodosaggio qualitativo in linea per la determinazione degli anticorpi IgG contro i gangliosidi nel siero umano.

Il DotDiver Anti-Gangliosid IgG è inteso come ausilio nella diagnosi di neuropatie autoimmuni in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio.

L'immunodosaggio è progettato per l'uso semiautomatico su con lo strumento DotDiver.

L'immunodosaggio è progettato per l'uso professionale nella diagnostica *in vitro*.

2 Rilevanza diagnostica

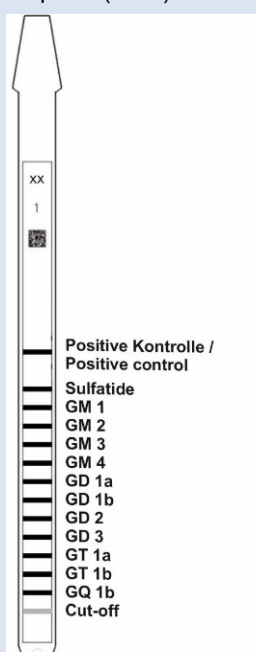
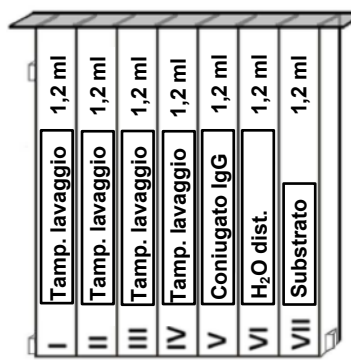
Le neuropatie infiammatorie del sistema nervoso periferico sono caratterizzate da numerosi sintomi clinici che vanno da una leggera stanchezza e un'indisposizione non caratteristica a disturbi neuromuscolari e deficit funzionali come paralisi respiratoria e arresto cardiaco. Recentemente sono stati identificati autoanticorpi contro i gangliosidi in pazienti affetti da disturbi del sistema nervoso periferico. I gangliosidi appartengono al gruppo dei glicolipidi acidi contenenti un lipide (ceramide), un oligosaccaride e acido sialico. I gangliosidi sono componenti delle membrane cellulari e si trovano soprattutto nel sistema nervoso centrale e periferico. Strutture simili ai gangliosidi compaiono anche sulla superficie dei microrganismi. Le neuropatie infiammatorie si verificano spesso in seguito a un'infezione da *Campylobacter jejuni*, Cytomegalovirus, virus di Epstein-Barr, *Mycoplasma pneumoniae* o *Haemophilus influenzae*. Gli anticorpi contro le strutture gangliosidiche dei microrganismi possono cross-reagire con i gangliosidi della

guaina mielinica o della neurofibra e indurre processi infiammatori con conseguente demielinizzazione.

3 Principio del saggio

I saggi immunologici lineari sono spesso utilizzati per la determinazione di anticorpi specifici diretti contro più antigeni. Le strisce del saggio sono rivestite con vari antigeni a intervalli costanti. Se nel campione del paziente sono presenti anticorpi, questi si legano ai rispettivi antigeni. Un anticorpo secondario coniugato con l'enzima perossidasi di rafano rileva gli immunocomplessi generati. Un substrato incolore viene convertito in un prodotto colorato e insolubile. L'intensità del segnale del prodotto di reazione precipitato è proporzionale all'attività anticorpale nel campione.

4 Componenti del saggio

Componente	Descrizione
Strisce reattive STRIP , 24 pezzi (3 x 8) 	24 (3 x 8) strisce separabili singolarmente su supporti di plastica (pronte per l'uso), ciascuna striscia rivestita di materiale altamente purificato. - Solfatide - GM1 - GM2 - GM3 - GM4 - GD1a - GD1b - GD2 - GD3 - GT1a - GT1b - GQ1b nonché il controllo positivo e valore soglia
Cartucce CART , 24 pezzi con 7 pozzetti 	24 cartucce (pronte all'uso) sigillate con un foglio di alluminio, ogni pozzetto contiene i reagenti
Tampone di lavaggio WASH , 4 x 1,2 mL	Soluzione incolore (contiene ProClin 950)
Coniugato IgG CONJ , 1 x 1,2 mL	Soluzione colorata di anticorpo policlonale anti-IgG umane coniugato con perossidasi di rafano

	(contiene ProClin 950)
Substrato TMB SUB , 1 x 1,2 mL	Soluzione di substrato di 3,3',5,5'-Tetra-metilbenzidina
Acqua dist. A.dest , 1 x 1,2 mL	Acqua distillata
Certificato CQ 1 pezzo	-
Istruzioni per l'uso 1 pezzo	-

5 Materiale necessario ma non fornito

- Comuni attrezzature di laboratorio
- Pipette di precisione (10 µL) e puntali monouso
- Strumento DotDiver2.0 o, in alternativa, strumento DotDiver con scanner aggiuntivo e software di valutazione Blot GALaxy o equivalenti
- Carta assorbente

6 Conservazione e stabilità

Una volta ricevuti, tutti i componenti del saggio devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C, preferibilmente nella confezione originale del kit. Se conservati correttamente nei loro contenitori originali, tutti i componenti sono stabili fino alla data di scadenza.

7 Informazioni generali

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*. Le istruzioni per l'uso dell'immunodosaggio e del dispositivo DotDiver devono essere lette attentamente. Esse sono valide solo per il presente prodotto con la composizione indicata e devono essere rigorosamente seguite per garantirne risultati affidabili. Eventuali deviazioni possono portare a risultati errati. I componenti non devono essere scambiati con reagenti di lotti diversi o di altri produttori. L'esposizione dei reagenti alla luce forte deve essere evitata durante l'intera procedura del saggio e la conservazione.

8 Preparazione

8.1 Preparazione dei reagenti

Tutti i componenti, comprese le strisce reattive e le cartucce, devono essere utilizzati raffreddati (da 2 °C a 8 °C) durante il test.

8.1.1 Strisce reattive

Le strisce reattive infrangibili sono fornite su supporti di plastica all'interno di buste di alluminio sigillate. Le strisce reattive non utilizzate devono sempre essere conservate in frigorifero e protette dall'umidità.

8.1.2 Cartucce

Le cartucce sono pronte all'uso. Contengono reagenti pronti all'uso in quantità sufficiente per l'analisi di un campione. Le cartucce non utilizzate devono sempre essere conservate in frigorifero.

8.2 Preparazione dei campioni

8.2.1 Materiale campione

Si raccomanda l'uso di siero appena raccolto da sangue prelevato mediante venipuntura. Si deve evitare l'uso di campioni itterici, lipemici, emolitici o contaminati da batteri. Le sostanze insolubili devono essere rimosse dal campione mediante centrifugazione. I campioni non devono essere inattivati termicamente.

8.2.2 Conservazione dei campioni

I campioni possono essere conservati a 2 °C - 8 °C fino a tre giorni. La conservazione a lungo termine richiede -20 °C. È

necessario evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuti. Per un uso multiplo, i campioni devono essere aliquotati e conservati a -20 °C.

9 Prestazioni del saggio

9.1 Procedura

Utilizzare le strisce reattive e le cartucce direttamente dal frigorifero.

Avviare il dispositivo DotDiver. Inserire le strisce reattive nel morsetto e le cartucce nelle posizioni corrispondenti del portacartucce e inserire entrambe nello strumento. Chiudere lo sportello e seguire le indicazioni sullo schermo di DotDiver.

L'elaborazione, l'analisi e la valutazione dell'immunodosaggio eseguito dal DotDiver2.0 sono descritte di seguito (Protocollo 03):

Fase	Descrizione
1. Perforamento	Perforazione del pozzetto 1 delle cartucce da parte dello strumento
2. Aprire lo sportello	Aprire lo sportello dello strumento
3. Aggiunta di campioni	Aggiungere 10 µL di campioni non diluiti nel pozzetto 1 delle cartucce e applicare le informazioni sul campione.
4. Chiudere lo sportello	Chiudere lo sportello dello strumento
5. Perforamento	Lo strumento perfora tutti gli altri pozzetti delle cartucce
6. Prelavaggio	Incubazione delle strisce per 1 min nel pozzetto 2 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
7. Incubazione del campione	Incubazione delle strisce per 60 min nel pozzetto 1 (tampone di diluizione) della cartuccia.
8. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 minuti nel pozzetto 2 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
9. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 minuti nel pozzetto 3 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
10. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 minuti nel pozzetto 4 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
11. Incubazione del coniugato	Incubazione delle strisce per 10 min nel pozzetto 5 (coniugato) della cartuccia.
12. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 minuti nel pozzetto 4 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
13. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 minuti nel pozzetto 3 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
14. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 minuti nel pozzetto 2 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
15. Incubazione del substrato	Incubazione delle strisce per 10 min nel pozzetto 7 (substrato) della cartuccia.
16. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 minuti nel pozzetto 3 (tampone di lavaggio) della cartuccia.
17. Lavaggio	Incubazione delle strisce per 2 min nel pozzetto 6 (H ₂ O dist.) della cartuccia.

18. Asciugatura	Asciugatura automatica delle strisce reattive per circa 40 minuti mediante ventilatore integrato.
19. Analisi	Scansione automatica delle strisce tramite camera integrata
20. Valutazione	Valutazione automatizzata delle strisce reattive tramite software integrato

9.2 Automazione

L'elaborazione, l'analisi e la valutazione dell'immunodosaggio vengono eseguite interamente dal dispositivo DotDiver2.0. Per l'uso semiautomatico dell'immunodosaggio con il dispositivo DotDiver1.0, preparare le strisce reattive e le cartucce secondo le istruzioni per l'uso dello strumento e seguire le indicazioni sullo schermo di DotDiver. Il trattamento dell'immunodosaggio deve essere eseguito in modo analogo alla procedura descritta. Le strisce processate devono essere asciugate per circa 45 minuti prima della scansione e della valutazione delle immagini mediante il software di valutazione Blot GALaxy o equivalenti.

10 Valutazione del saggio

10.1 Tracciabilità metrologica

L'immunodosaggio viene calibrato utilizzando campioni di riferimento interni.

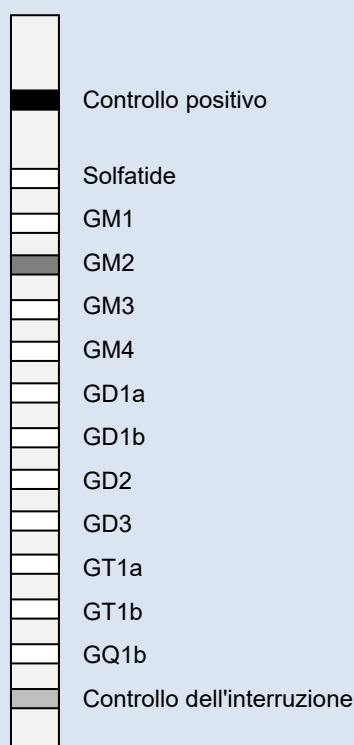
10.2 Valutazione

Le strisce reattive sono rivestite di antigeni. L'intensità del colore è proporzionale all'attività dell'anticorpo specifico nel campione.

La valutazione qualitativa viene eseguita confrontando l'intensità del segnale specifico dell'antigene del campione del paziente con la linea di controllo della striscia reattiva.

Un campione è considerato positivo per un antigene specifico se la colorazione della linea dell'antigene mostra una colorazione più intensa rispetto alla linea di controllo cut off della striscia reattiva. Un campione è considerato negativo per un antigene specifico se la colorazione della linea dell'antigene mostra una colorazione meno intensa o uguale rispetto alla linea di controllo della striscia reattiva.

Esempio di striscia reattiva DotDiver Anti-Gangliosid processata



10.3 Criteri di validità

I saggi sono validi solo se sono soddisfatti i seguenti criteri di validità:

- Intensità striscia di sfondo < intensità del valore soglia
- Intensità del valore soglia < intensità del controllo positivo

La colorazione di questi controlli garantisce che il test è stato eseguito correttamente. Se questi criteri non sono soddisfatti, il test non è valido e deve essere ripetuto.

10.4 Risoluzione dei problemi

In caso di saggi non validi, occorre verificare le date di scadenza e le condizioni di conservazione, i tempi e le temperature di incubazione e l'esatta calibrazione di tutti gli strumenti utilizzati. Se non è stato possibile identificare un motivo per cui il test non è valido, si prega di contattare il fornitore o il produttore del prodotto.

10.5 Intervalli di riferimento

A causa delle diverse sieroprevalenze nelle singole regioni, ogni laboratorio deve verificare gli intervalli di riferimento con analisi proprie e adattarli, se necessario.

10.6 Interpretazione dei risultati dei saggi

Un risultato positivo del saggio indica la presenza di anticorpi specifici. Un risultato negativo indica l'assenza di anticorpi specifici, ma non esclude la possibilità di una reazione autoimmune. In caso di risultati borderline, non è possibile effettuare una valutazione affidabile.

Nei pazienti con neuropatie del sistema nervoso periferico sono state osservate le seguenti attività degli anticorpi anti ganglioside:

Malattia	Antigene	Classe di anticorpi
Sindrome di Guillain-Barré	GM1, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b	IgG (IgM)
Sindrome di Miller-Fisher	GQ1b, GT1a	IgG
Neuropatia muscolare multifocale	GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b	IgM
Polineuropatia demielinizzata cronica infiammabile	GM2, GM3, GD1a, GD1b	IgM
Neuropatia cronica atassica (CANOMAD)	GM3, GD1b, GD2, GD3, GT1b, GQ1b	IgM
Neuropatia acuta atassica-sensoriale	GD1b, GD3	IgG
Neuropatia assonale muscolare acuta	GM1, GD1a	IgG
Paraproteinemica IgM, neuropatia demielinizzante	Solfatide	IgM (IgG)

10.7 Limiti del metodo

A causa della reattività incrociata con le strutture microbiche, gli anticorpi anti-ganglioside possono essere trovati anche in persone sane. Una singola incidenza di questi anticorpi non è patognomonica di una neuropatia.

L'interpretazione dei risultati dei saggi deve sempre essere considerata in combinazione con il quadro clinico del paziente. La diagnosi non deve basarsi sui risultati di un solo metodo diagnostico. Tutti i risultati clinici e di laboratorio devono essere valutati per formulare una diagnosi. Per la conferma, è necessario eseguire ulteriori indagini.

11 Caratteristiche delle prestazioni

11.1 Caratteristiche delle prestazioni analitiche

11.1.1 Precisione

La precisione dei risultati del saggio è stata valutata mediante la determinazione della variazione intra- e inter-test attraverso l'analisi di più campioni con diverse attività anticorpali. Non sono state osservate differenze nella valutazione qualitativa.

11.2 Caratteristiche delle prestazioni diagnostiche

11.2.1 Sensibilità e specificità diagnostica

La sensibilità e la specificità totali sono state valutate mediante l'analisi di 72 campioni caratterizzati (confermati positivi o negativi per gli anticorpi specifici dalle metodologie di riferimento).

	Prestazioni diagnostiche
Sensibilità	76,7 %
Specificità	> 99 %

12 Avvertenze e precauzioni

Il prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro* da parte di personale qualificato, autorizzato e addestrato. Tutti i componenti del saggio e i campioni umani devono essere maneggiati con cura in quanto potenzialmente pericolosi. È necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio (BPL) e a tutte le normative pertinenti.

Nel caso in cui il prodotto sia danneggiato o le informazioni sul prodotto, compresa l'etichettatura, siano errate o non corrette, si prega di contattare il produttore o il fornitore.

Questo prodotto contiene preparati di origine umana e/o animale. Qualsiasi materiale derivato da fluidi corporei umani o da organi utilizzati per la preparazione dei componenti è stato testato ed è risultato negativo all'HBsAg (Antigene di superficie del virus dell'epatite B) e agli anticorpi anti-HIV e anti-HCV. Tuttavia, tutti i componenti e tutti i campioni dei pazienti devono essere trattati come potenzialmente pericolosi in conformità alle leggi nazionali e alle linee guida appropriate sulla sicurezza biologica.

Poiché il prodotto contiene materiali potenzialmente pericolosi, è necessario seguire le seguenti precauzioni: Non fumare, mangiare o bere durante la manipolazione del materiale del kit o dei campioni. Evitare il contatto diretto con il materiale del kit o con i campioni indossando guanti protettivi, camice da laboratorio e occhiali di sicurezza. Non pipettare mai il materiale per bocca. Pulire prontamente le fuoriuscite e lavare accuratamente la superficie interessata con un decontaminante. Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.

Alcuni reagenti contengono ProClin (< 1,0%) come conservante, possono causare sensibilizzazione cutanea (H317) e non devono essere ingeriti o lasciati entrare in contatto con la pelle o le mucose (P280, P333+P313).

È necessario osservare le informazioni contenute nella scheda di sicurezza relative ai possibili pericoli, alle misure di primo soccorso, alle misure da adottare in caso di rilascio involontario di grandi quantità, alla manipolazione e allo stoccaggio, ai dispositivi di protezione individuale, alle informazioni sullo smaltimento e alle informazioni sulla tossicologia.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente.

13 Smaltimento

Per la decontaminazione e lo smaltimento è necessario attenersi alle raccomandazioni del CDC e alle linee guida e normative ambientali locali e nazionali pertinenti. I campioni, i materiali potenzialmente contaminati e i rifiuti infettivi devono essere decontaminati, ad esempio mediante autoclavaggio per 20 minuti a 121 °C.

14 Riferimenti

- Willison HJ, Yuki N: Neuropatie periferiche e anticorpi anti-glicolipidi. Brain, 2002, 125, 2591-625.
- Khalili-Shirazi A, Gregson N, Gray I, Rees J, Winer J, Hughes R: Anticorpi antiganglioside nella sindrome di Guillain-Barre dopo una recente infezione da citomegalovirus, J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 1999, 66, 376-9.
- Schwerer B, Neisser A, Bernheimer H: Modelli distinti di classe e sottoclasse di immunoglobuline G contro il ganglioside GQ1b nella sindrome di Miller Fisher in seguito a diversi tipi di infezione. Infect. Immun. 1999, 67, 2414 - 21.
- Alaniz ME, Lardone RD, Yudowski SL, Farace MI, Nore GA: Gli anticorpi umani anti-GM1 normalmente presenti nell'immunoglobulina M e la risposta immunitaria ai batteri. Infect Immun, 2004, 72, 2148-51.

15 Simboli

	Produttore
	Marchio di conformità CE
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Numero di catalogo
	Identificatore univoco del dispositivo
	Codice lotto
	Limite di temperatura
	Data di scadenza
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contiene un numero sufficiente per <n> test
	Non riutilizzare
	Attenzione
	Avvertenze
	Rischio biologico
	Tenere lontano dalla luce del sole
	Striscia reattiva
	Cartuccia
	Coniugato
	Tampone di lavaggio
	Acqua distillata
	Substrato

16 Modifiche

Modifiche alle attuali istruzioni per l'uso	
Versione attuale	008/09.2022
Sintesi delle modifiche	Modifiche editoriali in tutte le sezioni; aggiunta di un simbolo di avvertenza per la conformità alla norma DIN EN ISO 15223-1:2022-02.