



Istruzioni per l'uso

Valide a partire dal 04.11.2024



Meridian Healthcare srl
Via Caronda, 446 - 95100
Catania - ITALY

BiermAK LINE

REF 4220

Saggio immunologico su membrana per la determinazione di anticorpi IgG contro il fattore intrinseco e gli antigeni delle cellule parietali 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



20 x 2



1 Destinazione d'uso

Il BiermAK LINE è un immunodosaggio qualitativo in linea per la determinazione degli anticorpi IgG contro il fattore intrinseco e gli antigeni delle cellule parietali nel siero umano.

Il BiermAK LINE è inteso come ausilio nella diagnosi di gastrite atrofica cronica in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio.

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

2 Rilevanza diagnostica

La gastrite cronica atrofica di tipo A (5% di tutte le forme) è caratterizzata da processi autoimmuni che portano alla distruzione delle cellule parietali e alla produzione di autoanticorpi sia contro le cellule parietali sia contro il loro prodotto fattore intrinseco (FI).

Il FI, una glicoproteina contenente acido sialico, svolge un ruolo importante nell'assorbimento della vitamina B12 (fattore estrinseco) nel tratto digestivo. Dopo la secrezione nello stomaco da parte delle cellule parietali, il FI si lega alla vitamina B12 ingerita con il cibo. Il complesso vitamina B12-FI viene assorbito nell'ileo legandosi a un recettore specifico del FI. Dopo l'assorbimento, la vitamina B12 viene rilasciata nel flusso sanguigno dove si lega alla transcobalamina. Una ridotta produzione di FI e/o un'alterazione della sua funzione di trasporto determinano una carenza di vitamina B12 che porta allo sviluppo dell'anemia di Biermer (anemia perniciose).

L'antigene principale degli autoanticorpi delle cellule parietali è la H⁺/K⁺ ATPasi di membrana che trasporta H⁺ nello stomaco. Gli

anticorpi contro questa ATPasi sono un marcatore sensibile per la gastrite di tipo A e si trovano nell'80-90% dei pazienti. La gastrite di tipo A si verifica spesso in concomitanza con altri disturbi endocrini autoimmuni (ad esempio, tiroidite di Hashimoto, morbo di Addison, diabete mellito insulino-dipendente). I pazienti affetti da gastrite di tipo A presentano un rischio elevato di carcinoma.

Gli autoanticorpi contro il FI vengono rilevati soprattutto nei pazienti con anemia perniciose associata a gastrite e sono patognomonici per questo quadro clinico. In base ai loro siti di legame, gli autoanticorpi anti-FI si dividono in due tipi. Gli autoanticorpi di tipo 1 interagiscono con il sito di legame per la vitamina B12 e, quindi, interferiscono con il legame della vitamina B12 al FI nello stomaco. Gli autoanticorpi di tipo 2, invece, bloccano il legame del FI e dei complessi vitamina B12-FI al recettore specifico nell'ileo reagendo con il sito corrispondente sul FI.

3 Principio del saggio

I saggi immunologici a linee (immunoblot) su membrana 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 specifici, questi si legano ai rispettivi antigeni. Un anticorpo secondario coniugato con l'enzima perossidasi rileva gli immunocomplessi generati. Un substrato incolore viene convertito in un precipitato colorato ed 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 A Ag 20 20 pezzi	20 strisce (pronte per l'uso), ogni striscia è rivestita con un antigene altamente purificato. - fattore intrinseco (suino) - H ⁺ /K ⁺ ATPasi (subunità alfa e beta; porcina) così come i controlli positivi, coniugati e negativi
Diluyente del campione C DIL 1 x 45 mL, tappo nero	Soluzione colorata (pronta all'uso; contiene ProClin 950)
Tampone di lavaggio B BUF WASH 10x 1 x 45 mL, tappo bianco	Soluzione concentrata (10x; contiene ProClin 950)
Coniugato IgG D CONJ 1 x 45 mL, tappo rosso	Soluzione colorata di anticorpo policlonale anti-IgG umano coniugato con perossidasi di rafano (pronta all'uso; contiene ProClin 950)
Substrato E SOLN TMB 1 x 45 mL, tappo blu	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (pronto all'uso)
Vassoio d'incubazione 2 pezzi	Vassoio d'incubazione per 10 strisce reattive
Modello di interpretazione 1 pezzo	Modello di interpretazione per l'incollaggio di strisce lavorate
Certificato CQ 1 pezzo	-

Istruzioni per l'uso 1 pezzo	-
--	---

5 Materiale necessario ma non fornito

- Comuni apparecchiature di laboratorio
- Pipette di precisione (5 - 1000 µL) e puntali monouso
- Cilindri graduati (100 - 1000 mL)
- Agitatore a piatto oscillante od orizzontale
- Pinze di plastica
- Carta assorbente
- Acqua distillata o deionizzata

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. Tutti i componenti sono stabili per almeno 2 mesi dopo l'apertura se conservati correttamente a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

7 Informazioni generali

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*. Le istruzioni per l'uso devono essere lette attentamente prima dell'uso. Esse sono valide solo per il presente prodotto con la composizione indicata e devono essere seguite rigorosamente 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.

La contaminazione dei reagenti deve essere evitata utilizzando tecniche asettiche durante il prelievo dai contenitori. Dopo l'uso, le fiale di reagente devono essere chiuse ermeticamente con i rispettivi tappi.

La contaminazione incrociata di campioni o reagenti può portare a risultati incoerenti e deve essere evitata utilizzando tecniche di pipettaggio coerenti.

L'esposizione dei reagenti alla luce forte deve essere evitata per tutta la durata della procedura di analisi e della conservazione.

Un lavaggio insufficiente comporta una scarsa precisione e segnali di misura elevati. Dopo ogni fase di lavaggio, il liquido residuo deve essere completamente rimosso.

8 Preparazione

8.1 Preparazione dei reagenti

Tutti i componenti, comprese le strisce reattive, devono essere portati a temperatura ambiente (TA: da 18 °C a 25 °C) prima dell'uso per almeno 30 minuti. Tutti i componenti liquidi devono essere miscelati delicatamente per garantirne l'omogeneità.

8.1.1 Strisce reattive

Le strisce reattive sono contenute in una busta. Le strisce reattive non utilizzate devono sempre essere conservate in frigorifero e protette dall'umidità in una busta di plastica.

8.1.2 Diluente del campione

Il diluente del campione è pronto all'uso.

8.1.3 Tampone di lavaggio

Il tampone di lavaggio è concentrato e deve essere diluito 1:10 con acqua distillata prima dell'uso (ad es. 100 mL + 900 mL). È necessario preparare una quantità sufficiente di soluzione di lavaggio. La soluzione di lavaggio diluita può essere conservata a 2 °C-8 °C fino a 30 giorni.

8.1.4 Coniugato

Il coniugato è pronto all'uso.

8.1.5 Substrato

Il substrato è pronto all'uso. È necessario evitare l'esposizione della soluzione del substrato alla luce.

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

Toccare le strisce reattive solo con una pinza di plastica. L'intera procedura deve essere eseguita su un agitatore basculante o orizzontale. È necessario rispettare i tempi e le temperature di incubazione indicati ed evitare significativi sbalzi di tempo durante il pipettaggio dei campioni e dei reagenti.

Fase	Descrizione
1. Aggiunta del diluente del campione	Posizionare le strisce con il lato reattivo rivolto verso l'alto nei rispettivi pozzetti della vassoio d'incubazione. Aggiungere 1,5 ml di diluente del campione pronto all'uso in ogni pozzetto. Assicurarsi che tutte le strisce siano completamente coperte dal liquido.
2. Incubazione	Incubare le strisce per 5 - 10 min a TA in agitazione.
3. Aggiunta di campioni	Aggiungere 20 µL di campioni non diluiti per pozzetto
4. Incubazione	Incubare le strisce per 30 min a temperatura ambiente in agitazione.
5. Ciclo di lavaggio	Decantare o aspirare con cautela la soluzione e lavare 3 volte per 3 min con 1,5 mL di soluzione di lavaggio in agitazione. Decantare con cura la soluzione. Il liquido rimanente deve essere rimosso con una carta assorbente.
6. Aggiunta del coniugato	Aggiungere in ogni pozzetto 1,5 ml di coniugato pronto all'uso.
7. Incubazione	Incubare le strisce per 30 min a temperatura ambiente in agitazione.
8. Ciclo di lavaggio	Decantare o aspirare con cautela la soluzione e lavare 3 volte per 3 min con 1,5 mL di soluzione di lavaggio in agitazione. Decantare con cura la soluzione. Il liquido rimanente deve essere rimosso con una carta assorbente.
9. Aggiunta di substrato	Aggiungere in ogni pozzetto 1,5 mL di substrato pronto all'uso.
10. Incubazione	Incubare le strisce per 10 - 12 min a TA in agitazione.
11. Lavaggio	Decantare o aspirare con cura la soluzione e lavare una volta per 3 min

	con 1,5 mL di soluzione di lavaggio o acqua distillata per arrestare la reazione agitando a TA.
12. Asciugatura	Raccogliere le strisce dai pozzetti e metterle ad asciugare su carta assorbente con il lato reattivo rivolto verso l'alto.
13. Analisi	Incollare le strisce essiccate sul modello dopo circa 30 minuti e valutare.

9.2 Automazione

L'elaborazione automatizzata dei saggi immunologici deve essere eseguita in modo analogo all'uso manuale e convalidata dall'utente.

10 Valutazione del saggio

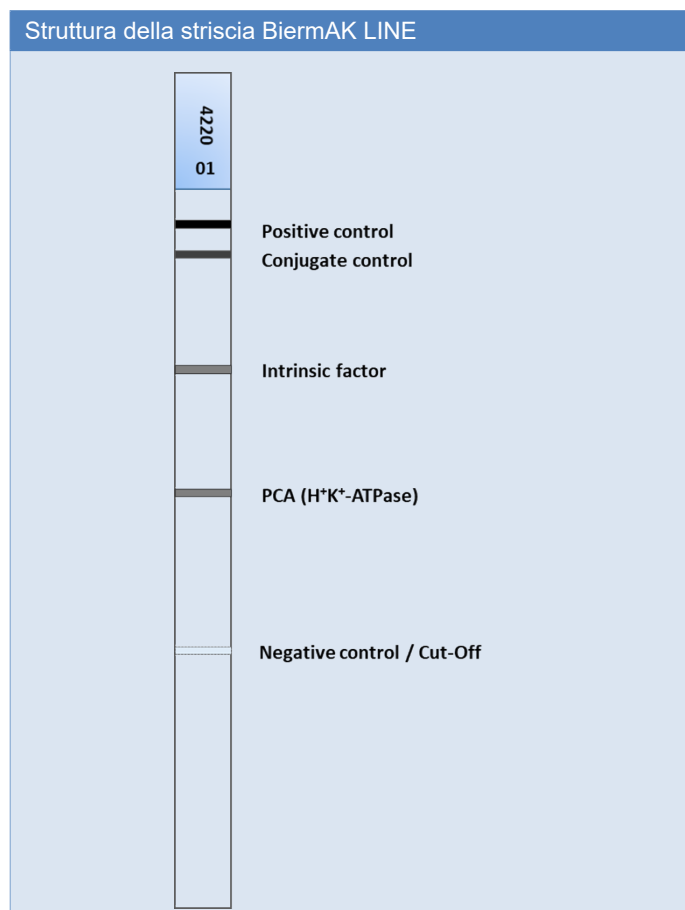
10.1 Tracciabilità metrologica

L'immunodosaggio viene calibrato utilizzando campioni di riferimento interni.

10.2 Valutazione

La valutazione qualitativa viene eseguita confrontando l'intensità del segnale specifico dell'antigene del campione del paziente con la linea di controllo negativo sulla striscia reattiva. La linea di controllo negativa serve come valore soglia per la valutazione qualitativa.

Le strisce reattive sono rivestite di antigeni. L'intensità del colore è proporzionale all'attività dell'anticorpo specifico nel campione. Un campione è considerato positivo per un antigene specifico se la colorazione della linea dell'antigene mostra una colorazione più intensa rispetto alla linea del controllo negativo sulla 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 del controllo negativo sulla striscia reattiva.



10.3 Criteri di validità

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

- Intensità controllo negativo < intensità controllo positivo
- Il controllo positivo e il controllo coniugato devono essere valutati positivamente.

La colorazione di questi controlli garantisce che il saggio è stato eseguito correttamente. Se questi criteri non sono soddisfatti, il saggio 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 saggio non è valido, 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 incerti, non è possibile effettuare una valutazione affidabile.

10.7 Limiti del metodo

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-saggio 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 sono state valutate mediante l'analisi di 115 campioni caratterizzati (confermati positivi o negativi per gli anticorpi specifici dalle metodologie di riferimento).

	Sensibilità	Specificità
Fattore intrinseco	> 99 %	99 %
H ⁺ /K ⁺ ATPasi	99 %	74.1 %

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 in autoclave per 20 min a 121 °C.

14 Riferimenti

- Toh BH, Gleeson PA, Simpson RJ, Moritz RL, Callaghan JM, Goldkorn I, Jones CM, Martinelli TM, Mu FT, Humphris DC, et al. The 60- to 90-kDa parietal cell autoantigen associated with autoimmune gastritis is a beta subunit of the gastric H⁺/K⁺-ATPase (proton pump). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990, 87, 6418 – 22.
- Waters HM, Dawson DW, Horwarth JE, Geary CG: High incidence of type II autoantibodies in pernicious anaemia. J. Clin. Pathol. 1993, 46, 45 – 7.
- Bizzaro N, Antico A. Diagnosis and classification of pernicious anemia. Autoimmun. Rev. 2014, 13, 565 – 8.

15 Simboli



Produttore

Marchio di conformità CE

Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*

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> saggi

Non riutilizzare

Attenzione

Avvertenze

Rischio biologico

Tenere lontano dalla luce del sole

Strisce reattive

Diluente del campione

Coniugato

Tampone di lavaggio

Substrato

16 Modifiche

Modifiche alle attuali istruzioni per l'uso

Versione attuale	008/11.2024
Sintesi delle modifiche	Modifica della posizione del controllo negativo (Fig. nel Capitolo 10.2)

DISTRIBUITO IN ITALIA DA

MERIDIAN HEALTHCARE srl

Via Caronda, 446 SC/A - 95100 CATANIA - ITALIA

Tel.: +39 095 7256869 Fax: +39 095 7254454

e-mail: info@meridianhealthcare.it

web: www.meridianhealthcare.it



Meridian Healthcare srl
Via Caronda, 446 - 95100
Catania -ITALY