

**VIROTECH Enterovirus IgG ELISA**  
(Enterovirus IgG ELISA)

N° articolo: EC116G00

**VIROTECH Enterovirus IgM ELISA**  
(Enterovirus IgM ELISA)

N° articolo: EC116M00

**VIROTECH Enterovirus IgA ELISA**  
(Enterovirus IgA ELISA)

N° articolo: EC116A00

**Codice colore:** IgG: marrone/marrone scuro  
IgM: strisce di reazione marroni  
IgM: strisce di riferimento marroni/trasparenti  
IgA: incolore

**SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

**Virotech Diagnostics GmbH**  
**Waldstrasse 23 A2**  
**63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0**  
**Fax.: +49(0)6074-23698-900**  
**[www.goldstandarddiagnostics.com](http://www.goldstandarddiagnostics.com)**



Freigabedatum:

REV 15 / VIROTECH Enterovirus IgG & IgM & IgA ELISA IT

# Indice

<b>1. Finalità d'uso .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Principio del test .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Contenuto della confezione .....</b>	<b>3</b>
3.1 Kit test per IgG.....	3
3.2 Kit test IgA .....	3
3.3 Kit test IgM.....	3
<b>4. Modalità di conservazione e stabilità del kit e dei reattivi pronti per l'uso.....</b>	<b>4</b>
<b>5. Precauzioni e avvertenze .....</b>	<b>4</b>
<b>6. Altro materiale occorrente (non fornito).....</b>	<b>4</b>
<b>7. Esecuzione del test.....</b>	<b>5</b>
7.1 Materiale di analisi .....	5
7.2 Preparazione dei reattivi .....	5
7.3 Esecuzione del test VIROTECH ELISA.....	5
7.4 Impiego di strumenti ELISA.....	6
<b>8. Valutazione del test.....</b>	<b>6</b>
8.1 Controlli funzionali dei test (IgG e IgA): .....	6
8.2 Controlli funzionali dei test (IgM) .....	6
8.3 Calcolo delle unità VIROTECH (VE) (IgG e IgA) .....	7
8.4 Calcolo delle unità VIROTECH (VE) (IgM) .....	7
8.5 Schema di valutazione IgG, IgM e IgA .....	7
8.6 Limiti del test.....	8
<b>9. Bibliografia .....</b>	<b>8</b>
<b>10. Schema di svolgimento del test .....</b>	<b>9</b>

## 1. Finalità d'uso

---

Il test ELISA serve all'individuazione degli anticorpi specifici dei gruppi anti-IgG, IgM e IgA contro gli enterovirus nel siero umano.

## 2. Principio del test

---

L'anticorpo ricercato nel siero umano (IgG, IgA) forma un complesso immunitario con l'antigene fissato sulla micropiastra. Le immunoglobuline non legate sono rimosse mediante processi di lavaggio. Il coniugato enzimatico si lega a questo complesso. Il coniugato non legato è rimosso anch'esso a sua volta mediante processi di lavaggio. Dopo l'aggiunta della soluzione di substrato (TMB), l'attività enzimatica (perossidasi) causa la comparsa di una colorazione blu, che vira al giallo dopo l'aggiunta della soluzione bloccante.

La reazione dell'anticorpo ricercato nel siero umano (IgM) è uguale a quella descritta per IgA e IgG. In aggiunta alla micropiastra rivestita con antigene (strisce di reazione) viene utilizzata anche una seconda micropiastra (strisce di riferimento). La differenza di intensità cromatica tra le strisce di reazione e quelle di riferimento rappresenta la misura della quantità di anticorpi legati.

## 3. Contenuto della confezione

---

### 3.1 Kit test per IgG

1. **1 micropiastra**, composta da 96 pozzetti singoli in strip frazionabili, rivestiti con antigene, liofilizzato
2. **soluzione salina tamponata PBS per diluizione (blu, pronta per l'uso), 2x50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
3. **soluzione PBS per lavaggio (concentrata 20 volte), 50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
4. **controlli IgG negativi, 2000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
5. **controlli IgG cut-off, 2000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
6. **controlli IgG positivi, 2000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
7. **coniugato IgG (anti-umano), 11ml**, coniugato con perossidasi di rafano (capra o pecora) con stabilizzante proteico e conservante in tampone Tris, pronto per l'uso
8. **soluzione per substrato di tetrametilbenzidina (3,3',5,5'TMB), 11ml**, pronta per l'uso
9. **soluzione bloccante al citrato, 6ml**, contiene una miscela di acidi

### 3.2 Kit test IgA

1. **1 micropiastra**, composta da 96 pozzetti singoli in strip frazionabili, rivestiti con antigene, liofilizzato
2. **soluzione salina tamponata PBS per diluizione (blu, pronta per l'uso), 2x50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
3. **soluzione PBS per lavaggio (concentrata 20 volte), 50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
4. **controlli IgA negativi, 2000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
5. **controlli IgA cut-off, 2000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
6. **controlli IgA positivi, 2000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
7. **coniugato IgA (anti-umano), 11ml**, coniugato con perossidasi di rafano (capra o pecora) con FCS e conservante in tampone Tris, pronto per l'uso
8. **soluzione per substrato di tetrametilbenzidina (3,3',5,5'TMB), 11ml**, pronta per l'uso
9. **soluzione bloccante al citrato, 6ml**, contiene una miscela di acidi

### 3.3 Kit test IgM

#### Box 1

10. **1 micropiastra (strisce di reazione)**, composta da 96 pozzetti singoli in strip frazionabili, rivestiti con antigene, liofilizzato
11. **soluzione salina tamponata PBS per diluizione (blu, pronta per l'uso), 3x50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
12. **soluzione per substrato di tetrametilbenzidina (3,3',5,5'TMB), 2x11ml**, pronta per l'uso

## Box 2

1. **1 micropiastra (strisce di riferimento)**, composta da 96 pozzetti singoli in strip frazionabili, rivestiti con antigene, liofilizzato
2. **soluzione PBS per lavaggio (concentrata 20 volte), 2x50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
3. **controlli IgM negativi, 4000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
4. **controlli IgM cut-off, 4000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
5. **controlli IgM positivi, 4000µl**, siero umano con stabilizzatori proteici e conservante, pronti per l'uso
6. **coniugato IgM (anti-umano), 2x11ml**, coniugato con perossidasi di rafano (capra o pecora) con FCS e conservante in tampone Tris, pronto per l'uso
7. **soluzione bloccante al citrato, 2x6ml**, contiene una miscela di acidi

## 4. Modalità di conservazione e stabilità del kit e dei reattivi pronti per l'uso

Conservare il kit a 2-8°C. La scadenza dei singoli componenti è riportata sulle rispettive etichette; per la stabilità del kit vedere il certificato del controllo qualità.

1. Dopo aver staccato i pozzetti individuali occorrenti, conservare le rimanenti strisce di pozzetti in sacchetto chiuso con essiccante a 2-8°C. Subito dopo l'uso, riporre i reattivi in ambiente a 2-8°C.
2. Il coniugato pronto per l'uso e la soluzione per substrato TMB sono sensibili alla luce e devono essere conservati al riparo dalla luce. Se per l'azione della luce si sviluppa nella soluzione per substrato un'alterazione del colore, la soluzione deve essere eliminata.
3. Prelevare soltanto la quantità di coniugato o di TMB necessaria per il test da eseguire. L'eventuale quantità di coniugato o TMB in eccesso non può essere rimessa nel recipiente originale, ma deve essere eliminata.

Materiale	Stato	Conservazione	Stabilità
Campioni da analizzare	diluiti	da +2 a +8°C	max. 6 ore
	non diluiti	da +2 a +8°C	1 settimana
Controlli	dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
Micropiastra	dopo l'apertura	da +2 a +8° (conservazione nella busta in dotazione con sacchetto di essiccante)	3 mesi
Assorbente di fattore reumatoide	non diluiti, dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
	diluito	da +2 a +8°C	1 settimana
Coniugato	dopo l'apertura	da +2 a +8°C (protetto dalla luce)	3 mesi
Tetrametilbenzidina	dopo l'apertura	da +2 a +8°C (protetto dalla luce)	3 mesi
Soluzione bloccante	dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
	dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
Soluzione per lavaggio	diluizione finale (pronta per l'uso)	da +2 a +25°C	4 settimane

## 5. Precauzioni e avvertenze

1. Sono impiegati come sieri di controllo esclusivamente sieri testati e riscontrati negativi per gli anticorpi anti HIV1, HIV2, HCV e verso l'antigene di superficie dell'epatite B. Tuttavia i campioni, i campioni diluiti, i controlli, i coniugati e le strisce per microtitolazione devono essere sempre considerati materiali potenzialmente infetti e quindi manipolati con le precauzioni del caso. Applicare le direttive valide per il laboratorio.
2. I componenti che contengono conservanti, come pure la soluzione bloccante al citrato e il TMB, sono irritanti per la pelle, gli occhi e le mucose. In caso di contatto con questi materiali, lavare immediatamente la parte interessata sotto acqua corrente e consultare eventualmente un medico.
3. Per lo smaltimento dei materiali utilizzati, attenersi alle direttive locali vigenti.

## 6. Altro materiale occorrente (non fornito)

1. Acqua distillata/demineralizzata
2. Pipetta a 8 canali 50µl, 100µl
3. Micropipette: 10µl, 100µl, 1000µl

4. Provette per i campioni
5. Salviette di carta o carta assorbente
6. Pellicola protettiva per piastre ELISA
7. Contenitore per rifiuti infetti
8. Lavatore a mano ELISA o lavatore automatico per micropiastre
9. Spettrofotometro per micropiastre con filtro 450/620nm (Lunghezza d'onda di riferimento 620-690nm)
10. Incubatore

## 7. Esecuzione del test

---

Seguire scrupolosamente il metodo prescritto da VIROTECH Diagnostics è il requisito indispensabile per ottenere i risultati corretti.

### 7.1 Materiale di analisi

Come materiale di analisi è possibile utilizzare sia siero che plasma (in questo caso il tipo di anticoagulanti non ha alcuna rilevanza), anche se nel presente foglietto illustrativo è menzionato soltanto il siero.

Preparare le diluizioni per i pazienti sempre fresche.

Per una conservazione più prolungata, il siero deve essere congelato. Evitare di scongelare e ricongelare ripetutamente il siero.

1. Utilizzare solo siero fresco e non inattivato.
2. Non impiegare campioni iperlipemici, emolitici e contaminati da batteri, né sieri torbidi (falsi positivi/negativi).

### 7.2 Preparazione dei reattivi

La VIROTECH Diagnostics System Diagnostica consente una grande flessibilità grazie alla possibilità offerta di impiegare tamponi di diluizione e lavaggio, TMB, soluzione bloccante di citrato e coniugato che soddisfano una vasta gamma di parametri e lotti. I controlli pronti per l'uso (controlli positivi, controlli cut-off, controlli negativi) sono specifici dei parametri e da impiegare esclusivamente con le piastre indicate dal certificato del controllo qualità.

1. Regolare l'incubatore su 37°C e verificare che questa temperatura sia stata raggiunta prima dell'inizio dell'incubazione.
2. Portare tutti i reattivi a temperatura ambiente; aprire la confezione delle strisce di reazione solo una volta raggiunta questa temperatura.
3. Agitare bene tutti i componenti liquidi prima dell'uso.
4. Diluire la soluzione concentrata per lavaggio con acqua distillata/demineralizzata fino a ottenere 1 litro (in caso di formazione di cristalli del concentrato, portarlo a temperatura ambiente prima della diluizione e agitare bene prima dell'uso).
5. Un titolo elevato di IgG o fattori reumatici possono interferire con l'individuazione specifica di anticorpi IgM e dare origine a risultati falsamente positivi o falsamente negativi **Trattare preventivamente i sieri con RF-SorboTech** (materiale adsorbente VIROTECH). Per i controlli IgM si può omettere l'assorbimento preventivo.

### 7.3 Esecuzione del test VIROTECH ELISA

Tutti i campioni vengono testati in IgM sia sulle **strisce di reazione** (strisce per antigeni enterovirus), sia sulle **strisce di riferimento** (strisce per antigeni di controllo). Prima del test, quindi, si colloca una accanto all'altra su un supporto la quantità di strisce di reazione e di riferimento necessaria al numero di campioni da testare. **Durante tale operazione, combinare tra loro soltanto strisce di reazione e di riferimento con il numero di lotto indicato dal certificato di controllo qualità.**

Le prove su IgA o IgG vengono eseguite con una sola micropiastra.

1. Per ogni serie di test dispensare 100µl del tampone diluente pronto per l'uso (valore bianco), dei controlli negativi, cut-off positivi per IgG IgM ed IgA e dei sieri diluiti dei pazienti. Raccomandiamo sempre una doppia serie (bianco, controlli e sieri pazienti); per i controlli cut-off la doppia serie è obbligatoria. Diluizione operativa dei sieri dei pazienti: 1+100; per es. 10µl di siero + 1ml di tampone diluente.
2. La dispensazione è seguita da un'incubazione per 30 min a 37 °C (con pellicola protettiva).
3. Il periodo d'incubazione viene concluso da 4 lavaggi, ciascuno eseguito con 350-400µl di soluzione di lavaggio per ogni pozzetto. Non lasciare la soluzione di lavaggio nei pozzetti. Gli ultimi residui di liquido devono essere eliminati rovesciando e battendo la piastra su un foglio di carta assorbente.
4. Dispensare 100µl del coniugato pronto per l'uso in tutti i pozzetti.
5. Incubazione del coniugato: 30 min a 37°C (con pellicola protettiva).

6. Terminare l'incubazione del coniugato mediante 4 lavaggi (vedere punto 3).
7. Dispensare in ogni pozzetto 100µl della soluzione per substrato TMB pronta per l'uso.
8. Incubazione della soluzione per substrato: 30 min a 37°C (con pellicola protettiva, tenere al buio).
9. Bloccaggio della reazione del substrato: dispensare 50µl della soluzione bloccante di citrato in ciascun pozzetto. Agitare con cautela e accuratamente la piastra fino alla completa miscelazione dei liquidi e alla comparsa di una colorazione gialla uniforme.
10. Misurare le estinzioni (DO) a 450/620nm (Lunghezza d'onda di riferimento 620-690nm). Regolare il fotometro in modo da poter sottrarre da tutte le altre estinzioni il valore del bianco misurato. La misurazione fotometrica dovrebbe essere effettuata entro un'ora dall'aggiunta della soluzione bloccante.

Vedere lo schema del test sull'ultima pagina

#### 7.4 Impiego di strumenti ELISA

Tutti i test ELISA VIROTECH Diagnostics possono essere elaborati con strumenti ELISA. L'utilizzatore è tenuto ad eseguire regolari convalide dell'apparecchiatura.

I prodotti ELISA della G.V. sono stati validati sui seguenti analizzatori ELISA (quali Immunozone, Plato 1300GSG, Plato 3300 GSG, e Monet TKA). L'utilizzatore dovrà regolarmente verificare la costante affidabilità del sistema con la seguente procedura:

1. In caso di installazione o di importanti riparazioni del processore ELISA, VIROTECH Diagnostics raccomanda di eseguire la convalida dell'apparecchio secondo le indicazioni del costruttore.
2. Si raccomanda di controllare poi il processore ELISA con il kit di convalida (EC250.00). Questo regolare controllo con il kit di convalida dovrebbe essere eseguito almeno una volta ogni tre mesi.
3. Ogni ciclo di test eseguito deve rispondere ai criteri di idoneità del certificato di controllo qualità allegato al prodotto.

Questa procedura garantisce il perfetto funzionamento del processore ELISA e serve inoltre anche alla garanzia di qualità del laboratorio.

### 8. Valutazione del test

I controlli pronti per l'uso servono ad una determinazione semiquantitativa di specifici anticorpi IgG, IgM ed IgA la cui concentrazione è indicata in unità VIROTECH (= VE). Le variazioni causate dall'esecuzione del test sono compensate dal metodo di calcolo, ottenendo quindi un'elevata riproducibilità. Per il calcolo delle VE si utilizzano i valori DO medi.

#### 8.1 Controlli funzionali dei test (IgG e IgA):

##### a) Valori DO

Il valore DO del bianco dovrebbe essere <0,15.

I valori DO dei controlli negativi dovrebbero essere inferiori a quelli indicati dal certificato di controllo qualità, i valori DO dei controlli positivi e dei controlli cut-off dovrebbero essere superiori a quelli indicati dal certificato di controllo qualità.

##### b) Unità VIROTECH (VE)

Le unità VIROTECH (VE) dei controlli cut-off sono definite pari a 10 VE. Le unità VE calcolate dei controlli positivi devono rientrare nei range indicati dal certificato di controllo qualità.

Se tali requisiti (valori DO, VE) non sono soddisfatti, il test deve essere ripetuto.

#### 8.2 Controlli funzionali dei test (IgM)

1. Da tutti i valori di estinzione dei controlli positivi, cut-off e negativi, nonché dai sieri dei pazienti sulle strisce di reazione, si sottraggono i bianchi misurati (= "**valori di prova**").
2. Da tutti i valori di estinzione dei controlli positivi, cut-off e negativi, nonché dai sieri dei pazienti sulle strisce di riferimento, si sottraggono i bianchi misurati (= "**valori di riferimento**").
3. Per tutti i controlli positivi, cut off e negativi, nonché per i sieri dei pazienti si calcolano le "**differenze dei valori di prova meno i valori di riferimento**", sottraendo dai rispettivi valori dei test i corrispondenti valori di riferimento.

##### a) Valori OD

La differenza tra valore di prova-valore di riferimento dei controlli negativi dovrebbero essere inferiori ai valori OD indicati dal certificato di controllo qualità, la differenza tra valore di prova-valore di riferimento dei controlli positivi e dei controlli cut-off dovrebbero essere superiori ai valori OD indicati dal certificato di controllo qualità.

##### b) Unità VIROTECH (VE)

Le unità VIROTECH (VE) dei controlli cut-off sono definite pari a 10 VE. Le unità VE calcolate dei controlli positivi devono rientrare nei range indicati dal certificato di controllo qualità.

Se tali requisiti (valori OD, VE) non sono soddisfatti, il test deve essere ripetuto.

### 8.3 Calcolo delle unità VIROTECH (VE) (IgG e IgA)

L'estinzione del valore bianco (450/620nm) deve essere sottratta da tutte le estinzioni.

$$VE_{\text{(controlli positivi)}} = \frac{DO_{\text{(controlli positivi)}}}{DO_{\text{(controlli cut - off)}}} \times 10$$

$$VE_{\text{(siero paziente)}} = \frac{DO_{\text{(siero paziente)}}}{DO_{\text{(controlli cut - off)}}} \times 10$$

### 8.4 Calcolo delle unità VIROTECH (VE) (IgM)

L'estinzione del valore bianco (450/620nm) deve essere sottratta da tutte le estinzioni.

$$VE_{\text{(controlli positivi)}} = \frac{\text{Differenza (valore prova - valore riferimento dei controlli positivi)}}{\text{Differenza (valore prova - valore riferimento dei controlli cut - off)}} \times 10$$

$$VE_{\text{(siero paziente)}} = \frac{\text{Differenza (valore prova - valore riferimento del siero paziente)}}{\text{Differenza (valore prova - valore riferimento dei controlli cut - off)}} \times 10$$

Esempio:

- OD su strisce di reazione del controllo positivo: 0,853
- OD su strisce di riferimento del controllo positivo: 0,107
- Differenza valore di prova - valore di riferimento del controllo positivo: 0,746
- OD su strisce di reazione del controllo cut-off: 0,341
- OD su strisce di riferimento del controllo cut-off: 0,073
- Differenza valore di prova - valore di riferimento del controllo cut-off: 0,268

$$VE_{\text{(controllo positivo)}} = \frac{0,746}{0,268} \times 10 = 27,8$$

### 8.5 Schema di valutazione IgG, IgM e IgA

Risultato (VE)	Valutazione
< 9,0	negativo
9,0 - 11,0	zona limite
> 11,0	positivo

1. Se le VE misurate del campione sono superiori alla zona limite, i campioni sono considerati positivi.
2. Se le VE misurate si trovano nella zona limite, ma in assenza di concentrazioni significative di anticorpi, i campioni sono considerati al limite. Per accertare con sicurezza la presenza di un'infezione, è necessario determinare il livello di anticorpi di due campioni di siero. Uno dei campioni deve essere testato subito dopo l'inizio dell'infezione, un secondo campione dopo 5-10 giorni (siero convalescente). La concentrazione di anticorpi dei due campioni deve essere determinata in parallelo, cioè nella stessa serie di test. Non è possibile ottenere una diagnosi corretta sulla base della valutazione di un singolo campione.

3. Se i valori misurati sono al di sotto della zona limite definita, il campione non contiene anticorpi specifici dell'antigene in misura rilevabile. I campioni sono quindi considerati negativi.

## 8.6 Limiti del test

La risposta immunitaria può essere omotipica o eterotipica. Gli anticorpi omotipici sono rivolti contro epitopi specifici dei sierotipi, mentre gli anticorpi eterotipici riconoscono gli epitopi identici o simili tra i sierotipi.

Il test VIROTECH ELISA consente di individuare anticorpi eterotipici a reazione crociata contro l'enterovirus con l'ausilio di preparati di antigeni denaturati al calore. Per la formulazione di una diagnosi di infezione da enterovirus, si deve tenere conto di quanto segue:

1. L'impronta di epitopi a reattività crociata sugli enterovirus inattivati al calore può mostrare differenze quantitative e qualitative a seconda di quale tipo di siero e quale isolato sono stati utilizzati per la preparazione dell'antigene. In modo corrispondente può variare anche lo spettro di anticorpi eterotipici, riconoscibile con diversi sistemi di test.
2. Il rapporto quantitativo tra anticorpi omotipici ed eterotipici nel siero del paziente può essere differente. Indagini condotte da King et al. (6) sottolineano che nel corso delle prime infezioni da enterovirus in età pediatrica si formano prevalentemente anticorpi omotipici e soltanto con l'età adulta, e quindi dopo numerose infezioni da enterovirus già superate, aumenta la quantità di anticorpi eterotipici. Con il test VIROTECH ELISA contro l'enterovirus si possono pertanto presentare risultati negativi in caso di debole caratterizzazione della risposta immunitaria eterotipica rispetto a quella omotipica.
3. Poiché il test ELISA individua anche sieri positivi alla polio, non si può escludere che una vaccinazione esistente produca un risultato positivo.
4. Sono state descritte reazioni crociate tra enterovirus e epatite A, virus di Epstein-Barr (EBV), citomegalovirus (CMV) e rinovirus (7).
5. L'interpretazione dei risultati sierologici deve sempre tenere conto del quadro clinico, dei dati epidemiologici e dei risultati di altri esami di laboratorio eventualmente disponibili.

## 9. Bibliografia

---

1. Diagnostische Bibliothek: Coxsackie- und Echoviren; In vitro Diagnostica Nachrichten; 24 (1994) 1-8.
2. MIQ 13; Infektionen des Mundes und der oberen Atemwege; 35-37 (2000).
3. RKI, Übersicht zu Erkrankungen durch Enteroviren, Stand: Mai 2002.
4. Bomann J et al., Serum IgA, IgG und IgM Responses to different Enteroviruses as measured by a Coxsackie B5-based indirect ELISA; J. Med.Virol.; 38:32-35 (1992).
5. Swanink CMA et al., Coxsackie B1-Based Antibody-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgA with Broad Specificity for Enteroviruses, J. Clin. Microbiol. 31:3240-3246 (1993)
6. King M.J., Bidvell D., Shaikh A, Voller A., Banatvala J.E. Coxsackie-B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent (juvenile-onset; type 1) diabetes mellitus, Lancet i: 1397-9 (1983)
7. Samuelson, A. et al., Aspects on the serodiagnosis of enterovirus infections by ELISA, Serodiagn. Immunother. Infect. Dis.; 4:395-406 (1990).

## Preparazione dei campioni dei pazienti e soluzione di lavaggio

▼ **Soluzione di lavaggio:** diluire il concentrato con acqua distillata/demineralizzata fino ad ottenere 1 litro

▼ **Campioni di IgG/IgA – diluizione 1:101**

per es.:  
10 µl di siero/plasma + 1000 µl di tampone per diluizione  
(il tampone per diluizione del siero è pronto per l'uso)

▼ **Campioni di IgM – diluizione 1:101**

**assorbimento fattore reumatico con RF-SorboTech**

per es.:  
5 µl di siero/plasma + 450 µl di tampone per diluizione + 1  
goccia die RF-SorboTech per RT , incubare per 15 min

## Esecuzione del test

