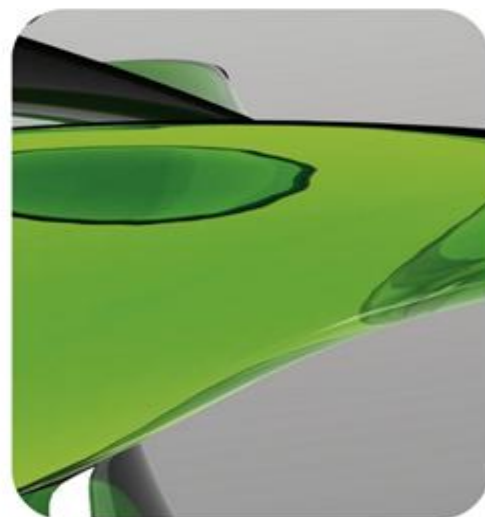




**AESKULISA<sup>®</sup>**  
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

# LIBRETTO DI ISTRUZIONI

**AESKULISA<sup>®</sup> Parvovirus B19 IgG / IgM**  
**Ref 6062 / 6063**



| Aggiornamenti          |                                                                             |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Ultima versione        | V.005 del 17/03/2025                                                        |
| Versione precedente    | V.004 del 07/04/2021                                                        |
| Capitolo modificato    | Indirizzo, Capitolo 13                                                      |
| Motivo delle modifiche | Implementazione UDI, aggiornamento dell'indirizzo, aggiunta del capitolo 13 |



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG  
Mikroforum Ring 2  
55234 Wendelsheim  
Germany  
Phone: +49 6734 9622-0  
Fax: +49 6734 9622-2222  
Website: [www.aesku.com](http://www.aesku.com)  
Mail: [info@aesku.com](mailto:info@aesku.com)

## Indice dei contenuti

|       |                                                               |    |
|-------|---------------------------------------------------------------|----|
| 1     | Destinazione d'uso .....                                      | 1  |
| 2     | Significato diagnostico .....                                 | 1  |
| 3     | Principio del test AESKULISA® .....                           | 1  |
| 4     | Antigeni .....                                                | 2  |
| 5     | Componenti del test AESKULISA® .....                          | 2  |
| 6     | Materiale aggiuntivo richiesto.....                           | 3  |
| 7     | Immagazzinamento e durata di conservazione .....              | 3  |
| 8     | Esecuzione del test AESKULISA® .....                          | 3  |
| 8.1   | Avvertenze generali .....                                     | 3  |
| 8.2   | Preparazione dei reagenti .....                               | 4  |
| 8.2.1 | Strisce da microtitolazione (pronte all'uso) .....            | 4  |
| 8.2.2 | Calibratori (pronti all'uso).....                             | 4  |
| 8.2.3 | Controlli (pronti all'uso).....                               | 4  |
| 8.2.4 | Tampone di diluizione dei campioni (conc. 5x) .....           | 4  |
| 8.2.5 | Tampone di lavaggio (conc. 50x) .....                         | 4  |
| 8.2.6 | Coniugato POD anti IgA, IgG o IgM umane (pronto all'uso)..... | 4  |
| 8.2.7 | Tampone substrato (pronto all'uso) .....                      | 4  |
| 8.2.8 | Reagente bloccante (pronto all'uso) .....                     | 4  |
| 8.3   | Preparazione del campione.....                                | 5  |
| 8.3.1 | Materiale dei campioni .....                                  | 5  |
| 8.3.2 | Diluente per campioni .....                                   | 5  |
| 8.3.3 | Assorbimento del fattore reumatoide con AESKULISA® IgM .....  | 5  |
| 8.3.4 | Conservazione dei campioni .....                              | 5  |
| 8.4   | Esecuzione del test.....                                      | 6  |
| 8.4.1 | Schema di pipettamento.....                                   | 6  |
| 8.4.2 | Svolgimento del test.....                                     | 6  |
| 8.5   | Esecuzione con applicazione automatica.....                   | 8  |
| 9     | Valutazione di AESKULISA® .....                               | 8  |
| 9.1   | Standardizzazione .....                                       | 8  |
| 9.2   | Valutazione quantitativa .....                                | 8  |
| 9.3   | Intervallo dei valori limite.....                             | 8  |
| 9.4   | Intervalli di misura .....                                    | 8  |
| 9.5   | Valutazione qualitativa .....                                 | 8  |
| 9.6   | Criteri di validità .....                                     | 9  |
| 9.7   | Interpretazione dei risultati .....                           | 9  |
| 10    | Caratteristiche delle prestazioni di AESKULISA® .....         | 10 |
| 10.1  | Sensibilità e specificità analitiche .....                    | 10 |
| 10.2  | Sensibilità e specificità diagnostica .....                   | 10 |
| 10.3  | Valori attesi .....                                           | 11 |
| 10.4  | Ripetibilità .....                                            | 11 |
| 11    | Istruzioni di sicurezza .....                                 | 12 |
| 11.1  | Avvertenze e precauzioni .....                                | 12 |
| 11.2  | Smaltimento .....                                             | 12 |
| 12    | Bibliografia.....                                             | 13 |
| 13    | Simboli normativi .....                                       | 14 |

## 1 Destinazione d'uso

---

I test AESKULISA® Parvovirus B19 IgG e IgM sono immunodosaggi qualitativi e quantitativi per la determinazione di anticorpi IgG e IgM umani diretti contro il parvovirus B19 nel siero o nel plasma. Il test AESKULISA® Parvovirus B19 IgM supporta il rilevamento delle infezioni acute. Il test AESKULISA® Parvovirus B19 IgG permette la conferma di un contatto patogeno e supporta il rilevamento dello stato immunitario.

L'interpretazione dei risultati può avvenire solo in correlazione con il quadro clinico. Una diagnosi non dovrebbe basarsi esclusivamente sui risultati del test eseguito, ma deve essere formulata tenendo in considerazione tutti i riscontri clinici e di laboratorio. Sono inoltre consigliabili ulteriori indagini per conferma. Gli immunodosaggi AESKULISA® sono progettati esclusivamente per l'uso diagnostico *in vitro* da parte di personale qualificato, addestrato, specificamente consigliato e che abbia familiarità con i metodi di laboratorio.

## 2 Significato diagnostico

---

Il parvovirus B19 appartiene alla famiglia dei *Parvoviridae*. Con un diametro da 18 a 26 nm, il virus ssDNA è uno dei più piccoli agenti patogeni umani. La trasmissione avviene principalmente attraverso l'infezione da droplet. In seguito a un'infezione primaria durante la gravidanza, il virus può essere trasmesso al feto per via transplacentare.

La maggior parte delle infezioni da parvovirus B19 è asintomatica dal punto di vista clinico. Negli altri casi, i sintomi della malattia sono estremamente diversi e spesso nei bambini si manifestano sotto forma di eritema infettivo (*Erythema infectiosum*) dopo un periodo d'incubazione da quattro a 14 giorni. Il quadro clinico è descritto come un'eruzione maculopapulare a chiazze che inizia sulle guance, poi si diffonde alle parti esposte degli arti ed è spesso accompagnata da sintomi simil influenzali con febbre e malessere. Negli adulti possono manifestarsi complicazioni reumatiche temporanee, prevalentemente su mani o piedi. Il decorso dell'infezione negli individui immunocompetenti è solitamente limitato dalla formazione di anticorpi neutralizzanti. In pazienti affetti da anemia emolitica o compromissioni del sistema immunitario, possono manifestarsi tuttavia decorsi gravi con crisi aplastiche e anemie croniche. Più raramente, si verificano miocardite, vasculite o glomerulonefrite. Le infezioni primarie durante la gravidanza risultano particolarmente rischiose, poiché la trasmissione transplacentare del virus al feto può portare a gravi danni fetali con anemia e *Hydrops fetalis* persino all'aborto e alla nascita di feti morti.

Date le diverse manifestazioni di un'infezione da parvovirus B19, il sospetto clinico è solitamente supportato dalla determinazione diagnostica di laboratorio di anticorpi specifici IgG e IgM.

## 3 Principio del test AESKULISA®

---

AESKULISA® (AESKU Enzyme Linked Immunosorbent Assay) è una procedura immunologica che si è dimostrata particolarmente efficace per la rilevazione degli anticorpi. La reazione di determinazione si basa sull'interazione specifica di anticorpi e antigeni. A questo scopo, le strisce reattive delle piastre da microtitolazione del test AESKULISA® sono rivestite con antigeni specifici di agenti infettivi che legano gli anticorpi presenti nel campione del paziente. Ulteriori anticorpi secondari marcati con perossidasi rilevano gli immunocomplessi così formati. L'enzima catalizza una reazione durante la quale un tampone substrato incolore viene trasformato in un prodotto colorato. L'intensità del segnale del prodotto di reazione è proporzionale all'attività anticorpale nel campione e viene misurata con metodo fotometrico.

## 4 Antigeni

La determinazione degli anticorpi con test AESKULISA® Parvovirus B19 IgG e IgM si basa sull'uso di particelle virus-simili (*Virus-like Particles*, VLPs) costituite da VP2 ricombinante.

## 5 Componenti del test AESKULISA®

| Componente del test                                                                                                                                                                                                                                                                    | Colore della soluzione               | Colore del coperchio                 | Quantità / Volume |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|
| <b>Strisce da microtitolazione separabili</b> [MP] ciascuna con otto pozzetti rivestiti (per un totale di 96), 1 vassoio.<br>Il materiale di rivestimento specifico del test è inattivato.                                                                                             | -                                    | -                                    | 12 unità          |
| <b>Calibratori A - D</b> [CAL] (pronti all'uso)<br>Siero umano o anticorpo chimerico in soluzione proteica (BSA); colorati; conservante ProClin.<br>L'attività anticorpale dei calibratori è indicata sulle loro etichette e sul certificato di controllo qualità del test AESKULISA®. | giallo*                              | bianco                               | 4 da 1,5 ml       |
| <b>Controllo positivo</b> [CON +] (pronto all'uso)<br>Siero umano o anticorpo chimerico in soluzione proteica (BSA); colorati; conservante ProClin.                                                                                                                                    | giallo*                              | rosso                                | 1 da 1,5 ml       |
| <b>Controllo negativo</b> [CON -] (pronto all'uso)<br>Siero umano o anticorpo chimerico in soluzione proteica (BSA); colorati; conservante ProClin.                                                                                                                                    | giallo*                              | verde                                | 1 da 1,5 ml       |
| <b>Tampone di diluizione dei campioni</b> [SB 5x] conc. 5x<br>Soluzione proteica (BSA); colorato;<br>conservante sodio azide < 0,1%.<br>Il tampone dei campioni per gli immunodosaggi AESKULISA® IgM contiene Rf-Absorbent.                                                            | IgG, IgA:<br>giallo<br>IgM: verde    | bianco                               | 1 da 20 ml        |
| <b>Tampone di lavaggio</b> [WASHB 50x] conc. 50x<br>Soluzione con Tween 20; colorato; conservante ProClin.                                                                                                                                                                             | verde                                | bianco                               | 1 da 20 ml        |
| <b>Coniugato anti IgA, IgG o IgM umane</b> [CONJ] (pronto all'uso)<br>Anticorpo policlonale diretto contro le IgA, IgG o IgM umane, coniugato con perossidasi di rafano, stabilizzato in soluzione proteica (BSA); colorato; conservante ProClin.                                      | IgA: rosso<br>IgG: blu<br>IgM: verde | IgA: rosso<br>IgG: blu<br>IgM: verde | 1 da 15 ml        |
| <b>Tampone substrato</b> [SUB] (pronto all'uso)<br>TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> stabilizzato.                                                                                                                                                                                     | incolore                             | nero                                 | 1 da 15 ml        |
| <b>Reagente bloccante</b> [STOP] (pronto all'uso)<br>1 M di acido cloridrico (HCl).                                                                                                                                                                                                    | incolore                             | bianco                               | 1 da 15 ml        |
| <b>Certificato di controllo qualità</b>                                                                                                                                                                                                                                                | -                                    | -                                    | 1 unità           |
| <b>Istruzioni per l'uso</b>                                                                                                                                                                                                                                                            | -                                    | -                                    | 1 unità           |

\*L'intensità del colore aumenta con l'attività degli anticorpi.

## 6 Materiale aggiuntivo richiesto

---

- Normale attrezzatura da laboratorio con vetreria (cilindri graduati da 100-1000 ml), tubi per diluizioni, agitatore Vortex, micropipette (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o multipipetta regolabile (100-1000 µl).
- Spettrofotometro per piastre da microtitolazione con filtro, lunghezza d'onda 450 nm, lunghezza d'onda di riferimento raccomandata nell'intervallo 600-690 nm (es. 620 nm)
- Dispositivo di lavaggio per piastre da microtitolazione (multipipetta da 300 µl, pipetta multicanale o sistema di lavaggio automatico)
- Carta da filtro
- *Acqua dist.*  
Gli immunodosaggi AESKULISA® sono stati sviluppati per utilizzo con acqua purificata (*purified water*) secondo la definizione della farmacopea U.S. (USP 26 - NF 21) ed europea (Eur. Ph. IV ed.).

## 7 Immagazzinamento e durata di conservazione

---

Le strisce da microtitolazione devono sempre essere conservate nella pellicola della confezione con una bustina di materiale igroscopico. Se conservati correttamente nella confezione originale e a 2-8 °C (35,6-46,4 °F), i reagenti e la piastra da microtitolazione sono stabili dopo l'apertura fino alla data di scadenza indicata. Le soluzioni diluite sono stabili per quattro settimane a 2-8 °C (35,6-46,4 °F).

## 8 Esecuzione del test AESKULISA®

---

### 8.1 Avvertenze generali

L'esatta osservanza delle istruzioni per l'uso garantisce risultati corretti. Per un corretto impiego degli immunodosaggi AESKULISA® utilizzare solo i reagenti AESKULISA®. Non sostituirli con reagenti di altri produttori.

Le piastre da microtitolazione, i calibratori, i controlli e i coniugati degli immunodosaggi AESKULISA® sono tarati per test e lotti specifici e non possono essere utilizzati con altri lotti. Le valutazioni dei calibratori e dei controlli sono indicate sul certificato di controllo qualità dell'immunodosaggio AESKULISA®. La soluzione di lavaggio, la soluzione del tampone substrato e il reagente bloccante possono essere combinati con tutti i gli immunodosaggi AESKULISA® indipendentemente dal test e dal lotto.

Il diluente del campione degli immunodosaggi AESKULISA® IgA e IgG può essere utilizzato con tutti gli immunodosaggi AESKULISA® IgA e IgG (codice articolo 6xxx) indipendentemente dal test e dal lotto. Il tampone di diluizione del campione degli immunodosaggi AESKULISA® IgM contiene Rf-Absorbent e può essere utilizzato con tutti gli immunodosaggi AESKULISA® IgM per sierologia infettiva (codice articolo 6xxx) indipendentemente dal test e dal lotto.

Al fine di evitare contaminazioni, per il prelievo dei reagenti è opportuno utilizzare sempre tecniche asettiche. Il coniugato e la soluzione del tampone substrato non devono mai essere pipettati con puntali contaminati da altri reagenti. La riproducibilità dei risultati dipende, tra l'altro, dall'accurata omogeneizzazione dei reagenti. Per questo motivo, le diluizioni del reagente e del campione devono essere accuratamente miscelate prima dell'uso. Una diluizione inadeguata può causare un calo di sensibilità nel rilevamento.

Inoltre, occorre garantire un'accurata tecnologia di pipettaggio e il rispetto dei tempi e delle temperature di incubazione specificati. Un lavaggio corretto previene le imprecisioni dei test.

Durante la conservazione e l'incubazione proteggere i reagenti dalla luce intensa. Evitare sempre l'esposizione a temperature superiori a 37 °C / 98,6 °F. Dopo l'uso, i reagenti devono essere chiusi ermeticamente per evitare la disidratazione e la contaminazione. Evitare di scambiare i tappi durante la chiusura dei flaconi.

Gli immunodosaggi AESKULISA® possono essere valutati solo se i criteri di validità sono stati soddisfatti.

## 8.2 Preparazione dei reagenti

Tutti i componenti e la piastra da microtitolazione devono essere portati a temperatura ambiente (20-25 °C / 68-77 °F) prima della preparazione del test. I reagenti liquidi devono essere accuratamente miscelati. Per la diluizione dei concentrati tampone usare solo flaconi di vetro puliti.

### 8.2.1 Strisce da microtitolazione (pronte all'uso)

Le strisce da microtitolazione sono provviste di sigle che identificano l'antigene con cui sono rivestite.

### 8.2.2 Calibratori (pronti all'uso)

I calibratori CAL A - CAL D sono pronti all'uso e non devono essere diluiti. I calibratori devono essere eseguiti a ogni test, indipendentemente dal numero di strisce reattive utilizzate.

### 8.2.3 Controlli (pronti all'uso)

Il controllo positivo CON+ e il controllo negativo CON- sono pronti all'uso e non devono essere diluiti. I controlli devono essere eseguiti a ogni test, indipendentemente dal numero di strisce reattive utilizzate.

A seconda delle linee guida nazionali, i laboratori possono anche convalidare i propri controlli e utilizzarli in alternativa.

### 8.2.4 Tampone di diluizione dei campioni (conc. 5x)

Il tampone concentrato deve essere diluito 1:5 con acqua distillata (ad esempio 20 ml + 80 ml) prima dell'uso. Il tampone degli immunodosaggi AESKULISA® IgM contiene Rf-Absorbent.

### 8.2.5 Tampone di lavaggio (conc. 50x)

Il tampone di lavaggio concentrato deve essere diluito 1:50 con acqua distillata (ad esempio 20 ml + 980 ml) prima dell'uso.

### 8.2.6 Coniugato POD anti IgA, IgG o IgM umane (pronto all'uso)

Il coniugato è pronto all'uso.

### 8.2.7 Tampone substrato (pronto all'uso)

Il tampone substrato TMB deve essere sempre pipettato con puntali nuovi per evitare contaminazioni. Evitare di esporre la soluzione di tampone substrato alla luce intensa.

### 8.2.8 Reagente bloccante (pronto all'uso)

Il reagente bloccante è pronto all'uso.

## 8.3 Preparazione del campione

### 8.3.1 Materiale dei campioni

Si raccomanda l'uso di campioni freschi di siero o di plasma EDTA. Non usare campioni che presentino contaminazione itterica, lipemica, emolitica o batterica. I campioni contenenti particolato devono essere centrifugati ( $< 1000 \times g$ ) e il surnatante deve essere rimosso per un ulteriore utilizzo. I campioni non devono essere sottoposti a inattivazione termica.

### 8.3.2 Diluente per campioni

I campioni dei pazienti devono essere diluiti 1:101 (ad esempio 10  $\mu$ l + 1000  $\mu$ l) con tampone del campione 1x e miscelati accuratamente.

### 8.3.3 Assorbimento del fattore reumatoide con AESKULISA® IgM

I fattori reumatoidi (Rf) sono prevalentemente autoanticorpi della classe IgM, che si legano preferibilmente agli immunocomplessi IgG. La determinazione di anticorpi IgM specifici per gli agenti patogeni può portare a risultati falsi positivi dovuti a questi fattori reumatoidi. Inoltre, gli anticorpi IgM con un legame più debole e specifici per gli agenti patogeni potrebbero essere sostituiti da anticorpi IgG con un legame più forte. La determinazione delle IgM potrebbe quindi portare a un falso negativo. Per questo motivo, il tampone del campione degli immunodosaggi AESKULISA® IgM contiene uno speciale Rf-Absorbent. L'assorbimento dei fattori reumatoidi avviene diluendo il campione del paziente in tampone del campione 1x dell'immunodosaggio AESKULISA® IgM e incubando per **almeno 15 minuti a temperatura ambiente**.

### 8.3.4 Conservazione dei campioni

I campioni dei pazienti devono essere utilizzati entro 8 ore e non devono essere conservati per più di 48 ore a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. Per conservare i campioni più a lungo tenerli a  $\leq -20$  °C /  $-4$  °F. Evitare il ripetuto scongelamento e congelamento.

## 8.4 Esecuzione del test

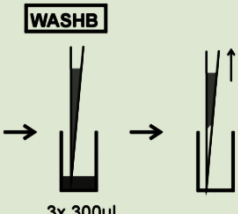
### 8.4.1 Schema di pipettamento

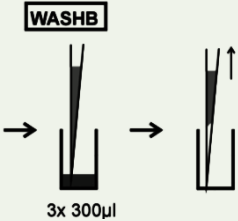
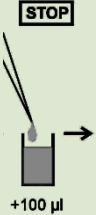
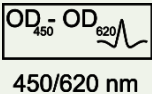
A seconda dell'impiego quantitativo o qualitativo previsto per l'immunodosaggio AESKULISA®, si raccomanda il seguente schema di pipettaggio:

| Impiego quantitativo |       |                    |   |   | Impiego qualitativo |       |                          |   |   |
|----------------------|-------|--------------------|---|---|---------------------|-------|--------------------------|---|---|
|                      | 1     | 2                  | 3 | 4 |                     | 1     | 2                        | 3 | 4 |
| A                    | CAL A | P3                 |   |   | A                   | CON-  | P5                       |   |   |
| B                    | CAL B | P4                 |   |   | B                   | CAL B | P6                       |   |   |
| C                    | CAL C | P5                 |   |   | C                   | CAL B | ...                      |   |   |
| D                    | CAL D | P6                 |   |   | D                   | CON+  |                          |   |   |
| E                    | CON-  | ...                |   |   | E                   | P1    |                          |   |   |
| F                    | CON+  |                    |   |   | F                   | P2    |                          |   |   |
| G                    | P1    |                    |   |   | G                   | P3    |                          |   |   |
| H                    | P2    |                    |   |   | H                   | P4    |                          |   |   |
|                      | CAL A | Calibratore A      |   |   |                     | CON-  | Controllo negativo       |   |   |
|                      | CAL B | Calibratore B      |   |   |                     | CAL B | Controllo <i>cut-off</i> |   |   |
|                      | CAL C | Calibratore C      |   |   |                     | CON+  | Controllo positivo       |   |   |
|                      | CAL D | Calibratore D      |   |   |                     |       |                          |   |   |
|                      | CON-  | Controllo negativo |   |   |                     |       |                          |   |   |
|                      | CON+  | Controllo positivo |   |   |                     |       |                          |   |   |

### 8.4.2 Svolgimento del test

Inserire il numero di pozzetti richiesto nel vassoio e creare la scheda del protocollo.  
Per la processazione manuale si consiglia di lavorare a temperatura ambiente.

| Fase di lavoro                                           | Simbolo                                                                             | Descrizione                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Aggiunta di calibratori, controlli e campioni diluiti |  | Aggiungere 100 µl di calibratori pronti all'uso, controlli e campioni diluiti a ogni pozzetto.                                                                                                  |
| 2. Incubazione del campione                              |                                                                                     | Incubare per 30 +/- 3 minuti<br>a 20-32 °C/68-89,6 °F                                                                                                                                           |
| 3. Lavare 3 volte                                        |  | Aspirare il liquido dai pozzetti;<br>aggiungere 300 µl di soluzione di lavaggio 1x per pozzetto, aspirare la soluzione di lavaggio e ripetere la procedura altre due volte; battere la piastra. |

|                                      |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4. Aggiunta del coniugato            |    | Aggiungere 100 µl di coniugato pronto all'uso per ogni pozzetto.                                                                                                                                |
| 5. Incubazione del coniugato         |    | Incubare per 30 +/- 3 minuti<br>a 20-32 °C/68-89,6 °F                                                                                                                                           |
| 6. Lavare 3 volte                    |    | Aspirare il liquido dai pozzetti;<br>aggiungere 300 µl di soluzione di lavaggio 1x per pozzetto, aspirare la soluzione di lavaggio e ripetere la procedura altre due volte; battere la piastra. |
| 7. Aggiunta del tampone substrato    |   | Aggiungere 100 µl di tampone substrato pronto all'uso per ogni pozzetto.                                                                                                                        |
| 8. Incubazione del tampone substrato |  | Incubare per 30 +/- 3 minuti<br>a 20-32 °C/68-89,6 °F,<br>proteggere dalla luce intensa.                                                                                                        |
| 9. Aggiunta del reagente bloccante   |  | Aggiungere 100 µl di reagente bloccante pronto all'uso per ogni pozzetto nella sequenza di aggiunta del tampone substrato.                                                                      |
| 10. Incubazione                      |  | Opzionale: incubare 5 minuti.                                                                                                                                                                   |
| 11. Miscelazione                     |                                                                                     | Scuotere la piastra con cautela per 5 secondi.                                                                                                                                                  |
| 12. Analisi                          |  | Misurare la densità ottica entro 30 minuti a 450 nm rispetto alla lunghezza d'onda di riferimento raccomandata di 620 nm.                                                                       |

## 8.5 Esecuzione con applicazione automatica

La processazione automatica degli immunodosaggi Aeskulisa® è analoga all'applicazione manuale. Seguire la procedura specificata. Gli immunodosaggi Aeskulisa® vengono valutati per l'uso con diversi strumenti; i relativi file sono disponibili su richiesta. Per la processazione automatica dei dosaggi immunoenzimatici Aeskulisa® su altre macchine, si raccomanda di sottoporre il file di test alla valutazione del fornitore del kit in collaborazione con il fornitore dello strumento. La corretta processazione automatica degli immunodosaggi Aeskulisa® deve essere convalidata dall'utente.

## 9 Valutazione di Aeskulisa®

---

### 9.1 Standardizzazione

Il test Aeskulisa® Parvovirus B19 IgG è stato standardizzato secondo lo standard internazionale 01/602 dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). I risultati quantitativi sono indicati in IU/ml. La calibrazione del test Aeskulisa® Parvovirus B19 IgM è stata eseguita su un siero di riferimento interno. I risultati quantitativi sono indicati in U/ml.

### 9.2 Valutazione quantitativa

In linea di principio, per gli immunodosaggi Aeskulisa® si raccomanda una valutazione quantitativa. Per generare la curva standard, i segnali di misura ottici (densità ottica, DO) dei calibratori sono valutati in funzione della loro attività anticorpale (in IU/ml o U/ml). Le attività anticorpali dei calibratori sono indicate sul certificato di controllo qualità specifico del lotto di test Aeskulisa®. Per la valutazione si consiglia il metodo log/lin e un curve fit con logistica a 4 parametri (4 PL). Sulla base della curva generata, l'attività anticorpale corrispondente è derivata dai segnali ottici di misura dei campioni.

### 9.3 Intervallo dei valori limite

L'intervallo dei valori limite dell'immunodosaggio Aeskulisa® è indicato sul certificato di controllo qualità e identifica gli intervalli dei risultati delle misurazioni borderline. Se la valutazione di un campione di un paziente si attesta al di sotto dell'intervallo dei valori limite il risultato del test è negativo; se la valutazione si attesta al di sopra dell'intervallo dei valori limite il risultato del test viene interpretato come positivo. A causa delle differenze nelle sieroprevalenze e nei programmi di vaccinazione dei singoli paesi, consigliamo di verificare l'intervallo dei valori limite con analisi condotte in proprio e, se necessario, di modificarlo.

### 9.4 Intervalli di misura

L'intervallo di misura dell'immunodosaggio Aeskulisa® è indicato sul certificato di controllo qualità. Lo studio di valutazione delle prestazioni ha dimostrato la linearità di diluizione dei campioni e l'alta precisione e riproducibilità dei risultati delle misurazioni in questo intervallo. I campioni che danno risultati superiori all'intervallo di misura devono essere classificati >max. I campioni che danno risultati al di sotto dell'intervallo di misura devono essere classificati <min. Se i campioni dei pazienti superano l'intervallo di misura, possono essere rianalizzati con una diluizione maggiore. Per la quantificazione, le attività anticorpali ottenute vengono poi moltiplicate per il fattore di diluizione aggiuntivo.

### 9.5 Valutazione qualitativa

La valutazione qualitativa con gli immunodosaggi Aeskulisa® avviene confrontando la densità ottica (DO) del campione del paziente con la densità ottica media del calibratore B applicato due volte (calibratore di cut off CAL B). Se la densità ottica del campione del paziente rientra

nell'intervallo  $\pm 20\%$  della densità ottica media del calibratore di *cut off* CAL B, deve essere valutata come borderline. Nel caso di una DO superiore, il campione del paziente deve essere ritenuto positivo, nel caso di una DO inferiore negativo.

### 9.6 Criteri di validità

Affinché il test sia ritenuto valido, devono essere soddisfatti i seguenti criteri:

- DO CAL A  $< 0,3$
- DO CAL A  $< DO CAL B < DO CAL C < DO CAL D < DO CAL D$
- DO CAL D  $> 1,3$
- Il controllo negativo deve risultare negativo.
- Il controllo positivo non deve risultare negativo.
- Per l'impiego quantitativo dell'immunodosaggio AESKULISA®, il controllo positivo deve rientrare nell'intervallo di validità indicato sul certificato di controllo qualità specifico del lotto di test AESKULISA®.
- Per l'impiego qualitativo dell'immunodosaggio AESKULISA®, i valori di DO del calibratore di *cut off* B (CAL B) eseguito due volte non devono differire di oltre il 20%.

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

Se il test risulta non valido, occorre controllare la data di scadenza dei reagenti (pronti all'uso), le condizioni di conservazione, i tempi e le temperature di incubazione, le pipette, il dispositivo di lavaggio, compresi i cicli di lavaggio, il fotometro e le altre apparecchiature utilizzate. Se nulla giustifica l'invalidità del test o si riscontrano altri risultati divergenti, contattare il fornitore o il fabbricante del kit.

### 9.7 Interpretazione dei risultati

Un immunodosaggio AESKULISA® positivo conferma la presenza di anticorpi specifici. Un risultato negativo mostra che nel campione del paziente non vi è alcuna attività anticorpale clinicamente rilevante contro l'agente patogeno, ma non esclude una nuova infezione. Nel caso di risultato borderline, non è possibile giungere a una valutazione certa del campione del paziente. In tal caso, il test deve essere ripetuto in parallelo con un nuovo campione di siero (coppia di sieri) prelevato a distanza di una o due settimane.

Gli anticorpi IgG specifici confermano un contatto patogeno. La determinazione di anticorpi specifici IgM è indicativa di un'infezione in corso o recente.

## Schema di interpretazione di base dei risultati sierologici

| Attività IgM | Attività IgG        | Valutazione                                                                                                                      |
|--------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| negativo     | negativo            | Non sono rilevabili anticorpi specifici.<br>Se vi sono motivi di sospetto, si raccomanda un nuovo test dopo una o due settimane. |
| positivo     | negativo / positivo | Indicazione di infezione acuta. Si raccomandano ulteriori indagini per conferma.                                                 |
| negativo     | positivo            | Indicazione di infezione pregressa.                                                                                              |

L'interpretazione dei risultati può avvenire solo in correlazione con il quadro clinico. Una diagnosi non dovrebbe basarsi esclusivamente sui risultati del test eseguito, ma deve essere formulata tenendo in considerazione tutti i riscontri clinici e di laboratorio. Sono inoltre consigliabili ulteriori indagini per conferma.

## 10 Caratteristiche delle prestazioni di AESKULISA®

### 10.1 Sensibilità e specificità analitiche

Il limite di bianco (LoB) è stato valutato mediante analisi multiple di pozzetti contenenti solo il tampone del campione. Il limite di rivelabilità (LoD) è stato valutato mediante analisi multiple di campioni negativi.

|                               | Limite di bianco (LoB) | Limite di rivelabilità (LoD) |
|-------------------------------|------------------------|------------------------------|
| AESKULISA® Parvovirus B19 IgG | 0,27 IU/ml             | 0,58 IU/ml                   |
| AESKULISA® Parvovirus B19 IgM | 0,77 U/ml              | 1,23 U/ml                    |

La specificità analitica degli immunodosaggi AESKULISA® è stata studiata aggiungendo ai campioni sostanze potenzialmente interferenti e determinandone l'influenza sui risultati delle analisi. Non è stato possibile determinare un'influenza significativa di emoglobina (fino a 800 mg/dl), bilirubina (fino a 20 mg/dl), coniugato di bilirubina (fino a 20 mg/dl) e trigliceridi (fino a 3000 mg/dl) sui risultati delle analisi.

### 10.2 Sensibilità e specificità diagnostica

Per determinare la sensibilità e la specificità degli immunodosaggi AESKULISA® Parvovirus B19 IgG e IgM, sono stati analizzati più 180 sieri di donatori di sangue e persone con sospetta infezione da parvovirus B19; i risultati sono stati confrontati con quelli degli immunodosaggi IgG e IgM del parvovirus B19 di un importante competitor europeo.

|                               | Sensibilità | Specificità |
|-------------------------------|-------------|-------------|
| AESKULISA® Parvovirus B19 IgG | > 99%       | > 99%       |
| AESKULISA® Parvovirus B19 IgM | > 99%       | > 99%       |

Per il calcolo della sensibilità e della specificità non sono stati presi in considerazione i risultati classificati come borderline.

### 10.3 Valori attesi

L'analisi dei sieri di donatori di sangue non selezionati con AESKULISA® Parvovirus B19 IgG e IgM ha mostrato la seguente distribuzione:

| AESKULISA®         | Numero di campioni | negativo   | borderline | positivo   |
|--------------------|--------------------|------------|------------|------------|
| Parvovirus B19 IgG | 100                | 35 (35,0%) | 2 (2,0%)   | 63 (63,0%) |
| Parvovirus B19 IgM | 100                | 96 (96,0%) | 4 (4,0%)   | 0 (0,0%)   |

### 10.4 Ripetibilità

Per determinare la precisione e la riproducibilità dei risultati delle analisi con AESKULISA® Parvovirus B19 IgG e IgM, sono state determinate la varianza intra e inter-dosaggio e la varianza da lotto a lotto con più campioni di attività anticorpale diversa.

#### AESKULISA® Parvovirus B19 IgG

| Campione | Estinzione (DO) | Attività IgG | Intra-test CV (U/ml) | Inter-test CV (U/ml) | CV (U/ml) da lotto a lotto |
|----------|-----------------|--------------|----------------------|----------------------|----------------------------|
| Siero 1  | 0,314           | 2,3 IU/ml    | 4,2 %                | 9,6 %                | 9,7 %                      |
| Siero 2  | 0,481           | 4,3 IU/ml    | 5,2 %                | 8,7 %                | 8,6 %                      |
| Siero 3  | 1,018           | 15,4 IU/ml   | 4,3 %                | 6,4 %                | 4,4 %                      |
| Siero 4  | 1,236           | 25,2 IU/ml   | 3,4 %                | 4,3 %                | 5,6 %                      |
| Siero 5  | 1,769           | 53,7 IU/ml   | 3,6 %                | 5,3 %                | 4,8 %                      |

#### AESKULISA® Parvovirus B19 IgM

| Campione | Estinzione (DO) | Attività IgM | Intra-test CV (U/ml) | Inter-test CV (U/ml) | CV (U/ml) da lotto a lotto |
|----------|-----------------|--------------|----------------------|----------------------|----------------------------|
| Siero 1  | 0,283           | 3,7 U/ml     | 3,3 %                | 5,9 %                | 2,9 %                      |
| Siero 2  | 0,430           | 5,7 U/ml     | 4,8 %                | 6,2 %                | 7,9 %                      |
| Siero 3  | 0,901           | 14,3 U/ml    | 3,7 %                | 4,2 %                | 3,9 %                      |
| Siero 4  | 1,453           | 34,1 U/ml    | 4,5 %                | 11,8 %               | 8,8 %                      |
| Siero 5  | 1,892           | 79,6 U/ml    | 9,9 %                | 11,1 %               | 7,7 %                      |

Relazioni di studio più complete sulle caratteristiche prestazionali aggiuntive come la sensibilità analitica, la specificità analitica, l'esattezza, la precisione, l'accuratezza, il recupero, la linearità, i limiti di rivelabilità e l'intervallo di misurazione sono disponibili su richiesta.

## 11 Istruzioni di sicurezza

---

### 11.1 Avvertenze e precauzioni

Gli immunodosaggi AESKULISA® sono destinati esclusivamente alla diagnostica *in vitro* e solo a personale qualificato con una perfetta padronanza delle tecniche di lavoro. La manipolazione dei reagenti e dei campioni dei pazienti è disciplinata dalla buona pratica di laboratorio riconosciuta. Se il prodotto è danneggiato o se le informazioni sul prodotto, compresa l'etichettatura, sono errate, contattare il fabbricante o il fornitore del kit.

Non pipettare con la bocca. Nelle aree in cui vengono utilizzati i reagenti o i campioni dei pazienti evitare di mangiare, bere o fumare. Quando si maneggiano i reagenti e i campioni dei pazienti, evitare il contatto diretto indossando camici da laboratorio, guanti monouso e occhiali di sicurezza. In seguito lavarsi accuratamente le mani.

Il prodotto contiene diluizioni di sieri umani. Sebbene tutti i sieri utilizzati siano risultati negativi per gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, per HBsAg (antigene di superficie del virus dell'epatite B) e per gli anticorpi anti-HCV, devono essere considerati potenzialmente infettivi. Il prodotto contiene anche componenti di origine animale. Nell'uso devono essere rispettate le direttive nazionali.

I singoli componenti del kit contengono reagenti potenzialmente pericolosi che possono causare irritazione agli occhi e alla pelle.

I singoli componenti contengono azoturo di sodio ( $\text{NaN}_3$ ) come conservante. L'azoturo di sodio può risultare tossico se ingerito o assorbito attraverso la pelle o gli occhi. Combinato con piombo o tubi di rame può formare azoturi metallici altamente esplosivi. Per evitare concentrazioni di azoturo, smaltire queste soluzioni insieme ad abbondante acqua.

I calibratori e i controlli nonché i campioni dei pazienti devono essere classificati come potenzialmente infettivi e trattati in conformità alle linee guida nazionali. I campioni dei pazienti e tutti i materiali potenzialmente infettivi devono essere decontaminati dopo l'esecuzione del test.

Tenere i reagenti fuori dalla portata dei bambini.

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

Un documento di sintesi sulla sicurezza e le prestazioni cliniche è disponibile tramite Eudamed e su richiesta.

### 11.2 Smaltimento

Per la decontaminazione e lo smaltimento, osservare le raccomandazioni del CDC e le disposizioni di legge locali e nazionali vigenti.

## 12 Bibliografia

---

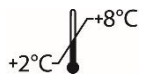
Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit (2010) Parvovirus B19. Bundesgesundheitsbl. 53, 944 – 56.

Enders, M., Weidner, A., Enders, G. (2007) Current epidemiological aspects of human parvo-virus B19 infection during pregnancy and childhood in the western part of Germany. Epi-demiol. Infect. 135, 563 – 69.

Heegaard, E.D. and Brown, K.E. (2002) Human parvovirus B19. Clin. Microbiol. Rev. 15, 485 – 505.

Modrow, S. (2014) Ringelröteln. AWMF-Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschafts-relevanter Virusinfektionen.

## 13 Simboli normativi

|                                                                                     |                                                                                                                                                               |                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IVD</b>                                                                          | - Diagnosi in vitro<br>- Pour diagnostic in vitro<br>- In Vitro Diagnostikum<br>- Para uso Diagnóstico in vitro                                               | - For in vitro diagnostic use<br>- Para uso diagnóstico in vitro<br>- In Vitro Διαγνωστικό μέσο               |
| <b>REF</b>                                                                          | - Numero d'ordine<br>- Référence Catalogue<br>- Bestellnummer<br>- Número de catálogo                                                                         | - Catalogue number<br>- Número de catálogo<br>- Αριθμός παραγγελίας                                           |
| <b>LOT</b>                                                                          | - Descrizione lotto<br>- Lot<br>- Chargen Bezeichnung<br>- Lote                                                                                               | - Lot<br>- Lote<br>- Χαρακτηρισμός παρτίδας                                                                   |
| <b>UDI</b>                                                                          | - Identificatore univoco del dispositivo<br>- Identifiant unique de l'appareil<br>- eindeutige Produktidentifizierung<br>- Identificador único do dispositivo | - Unique Device Identifier<br>- Identificador único del dispositivo<br>- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής      |
| <b>CE</b>                                                                           | - Conformità europea<br>- Déclaration CE de Conformité<br>- Europäische Konformität<br>- Declaração CE de Conformidade                                        | - EC Declaration of Conformity<br>- Declaración CE de Conformidad<br>- Ευρωπαϊκή συμφωνία                     |
|    | - 96 determinazioni<br>- 96 tests<br>- 96 Bestimmungen<br>- 96 Testes                                                                                         | - 96 tests<br>- 96 pruebas<br>- 96 προσδιορισμοί                                                              |
|    | - Rispettare le istruzioni per l'uso<br>- Voir les instructions d'utilisation<br>- Gebrauchsanweisung beachten<br>- Ver as instruções de uso                  | - See instructions for use<br>- Ver las instrucciones de uso<br>- Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης             |
|    | - Da utilizzarsi entro<br>- Utilise avant le<br>- Verwendbar bis<br>- Utilizar antes de                                                                       | - Use by<br>- Utilizar antes de<br>- Χρήση μέχρι                                                              |
|   | - Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)        | - Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)<br>- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F) |
|  | - Prodotto da<br>- Fabriqué par<br>- Hergestellt von<br>- Fabricado por                                                                                       | - Manufactured by<br>- Fabricado por<br>- Κατασκευάζεται από                                                  |
| <b>CON +</b>                                                                        | - Controllo positivo<br>- Contrôle Positif<br>- Positiv Kontrolle<br>- Controlo positivo                                                                      | - Positive Control<br>- Control Positivo<br>- Θετικός ορός ελέγχου                                            |
| <b>CON -</b>                                                                        | - Controllo negativo<br>- Contrôle Négatif<br>- Negativ Kontrolle<br>- Controlo negativo                                                                      | - Negative Control<br>- Control Negativo<br>- Αρνητικός ορός ελέγχου                                          |
| <b>CAL</b>                                                                          | - Calibratore<br>- Etalon<br>- Kalibrator<br>- Calibrador                                                                                                     | - Calibrator<br>- Calibrador<br>- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης                                                  |
| <b>CONJ</b>                                                                         | - Coniugato<br>- Conjugé<br>- Konjugat<br>- Conjugado                                                                                                         | - Conjugate<br>- Conjugado<br>- Σύζευγμα                                                                      |
| <b>MP</b>                                                                           | - Micropiastro rivestita<br>- Microplaque sensibilisée<br>- Beschichtete Mikrotiterplatte<br>- Microplaca revestida                                           | - Coated microtiter plate<br>- Microplaca sensibilizada<br>- Επικαλυμμένη μικροτίτλα                          |
| <b>WASHB 50x</b>                                                                    | - Tampone di lavaggio<br>- Tampon de Lavage<br>- Waschpuffer<br>- Solução de lavagem                                                                          | - Wash buffer<br>- Solución de lavado<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης                                          |
| <b>SUB</b>                                                                          | - Tampone substrato<br>- Substrat<br>- Substratpuffer<br>- Substrato                                                                                          | - Substrate buffer<br>- Tampón sustrato<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος                                  |
| <b>STOP</b>                                                                         | - Reagente bloccante<br>- Solution d'Arrêt<br>- Stopreagenz<br>- Solução de paragem                                                                           | - Stop solution<br>- Solución de parada<br>- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης                                |
| <b>SB 5x</b>                                                                        | - Tampone campione<br>- Tampon Echantillons<br>- Probenpuffer<br>- Diluente de amostra                                                                        | - Sample buffer<br>- Tampón Muestras<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων                                        |