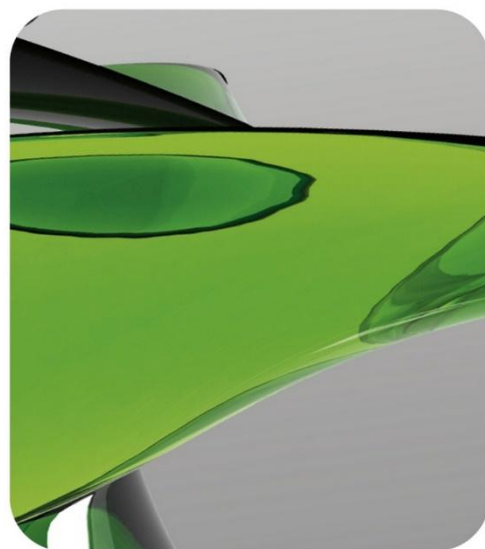




**AESKU.DIAGNOSTICS**

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



**AESKULISA®**

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

# INSTRUCTION MANUAL

**AESKULISA® HiT II**

Ref 3290







|                 |                 |
|-----------------|-----------------|
| Product Ref.    | 3290            |
| Product Desc.   | HiT II          |
| Manual Rev. No. | 005: 2025-01-31 |

## Istruzioni per l'uso

### Indice

---

|    |                                                          |    |
|----|----------------------------------------------------------|----|
| 1  | Finalità d'uso.....                                      | 1  |
| 2  | Applicazione clinica e principio del test .....          | 1  |
| 3  | Componenti del kit .....                                 | 2  |
| 4  | Conservazione e stabilità .....                          | 2  |
| 5  | Avvertenze e misure precauzionali .....                  | 3  |
| 6  | Prelievo dei campioni, preparazione e conservazione..... | 4  |
| 7  | Esecuzione del test.....                                 | 4  |
| 8  | Analisi quantitativa e qualitativa .....                 | 7  |
| 9  | Dati tecnici .....                                       | 8  |
| 10 | Dati del test/Caratteristiche del test.....              | 8  |
| 11 | Bibliografia.....                                        | 10 |
| 12 | Simboli normativi .....                                  | 11 |



## 1 Finalità d'uso

**AESKULISA® Hit II** è un test immunoenzimatico in fase solida per la determinazione quantitativa e qualitativa degli anticorpi IgG che provocano la trombocitopenia di tipo II indotta dall'eparina.

## 2 Applicazione clinica e principio del test

La trombocitopenia indotta dall'eparina (HiT) è un grave effetto collaterale del trattamento con eparina e si verifica nell'1-3% dei pazienti trattati.

Possono verificarsi due tipi di trombocitopenia indotta dall'eparina: la HiT di tipo I non ha rilevanza clinica ed è caratterizzata da una diminuzione transitoria della conta delle piastrine, che ritorna normale dopo alcuni giorni anche sotto trattamento con eparina. La HiT di tipo II è una forma immunomediata. La conta delle piastrine scende di oltre il 50% del valore base, 5 - 14 giorni dopo l'inizio della somministrazione di eparina. I pazienti colpiti sviluppano anticorpi in grado di riconoscere i neoepitopi esposti da un complesso costituito dal fattore piastrinico 4 (PF4) e dall'eparina. Gli anticorpi trovati sono più comunemente di classe IgG. Tuttavia, gli anticorpi di classe IgM e IgA compaiono raramente, e il loro effetto patogenico è ancora fonte di pareri controversi. Gli autoanticorpi HiT II sono in grado di legarsi al recettore Fcγ1 della piastrina e questa interazione innesca l'attivazione delle piastrine causando la secrezione della trombina coagulante. Inoltre, le piastrine attivate rilasciano PF4, che continua il ciclo di attivazione della piastrina indotto dall'eparina. Questo effetto è potenziato a causa della formazione di complessi di molecole tipo-eparina (eparan solfato) sulla superficie delle cellule endoteliali con fattore piastrinico 4 che può essere riconosciuto dagli autoanticorpi HiT II. Questo, a sua volta, può indurre l'espressione del fattore tissutale, con ulteriore attivazione della cascata coagulativa e della generazione di trombina. Porta ad un aumento del rischio di complicazioni tromboemboliche arteriose e venose che possono risultare letali nel 10-15% dei pazienti.

Una diagnosi precoce e la sostituzione con un anticoagulante alternativo appropriato possono minimizzare decisamente la gravità della complicazione.

### Principio del test

I campioni di siero diluiti 1:101 vengono incubati nei pozzetti sensibilizzati con l'antigene specifico. Gli anticorpi specifici nel siero del paziente, se presenti, si legano all'antigene legato alla fase solida; i componenti del siero non legati vengono separati nella successiva fase di lavaggio. Vengono quindi aggiunte immunoglobuline anti-immunoglobuline umane, marcate con perossidasi di rafano (coniugato), che, durante l'incubazione, si legano al complesso antigene-anticorpo precedentemente formatosi. Le immunoglobuline non legate vengono allontanate nella successiva fase di lavaggio. L'aggiunta di un cromogeno (TMB), provoca la formazione di un complesso colorato in blu; la successiva aggiunta di una soluzione acida provoca il blocco della reazione enzimatica e il viraggio del colore da blu a giallo. L'intensità del colore formato, misurata a 450 nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione di anticorpi anti-antigena in standard, campioni e controlli.

### 3 Componenti del kit

| <b>DA DILUIRE PRIMA DELL'USO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                 |                  |                        |                                                                                                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Componente                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Quantità        | Colore del tappo | Colore della soluzione | Descrizione / Componenti                                                                                                                                    |
| Tampone per la diluizione dei campioni (5x)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1 da 20 mL      | Bianco           | Giallo                 | concentrato 5 x Tris, cloruro di sodio (NaCl), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide > 0,1 % (conservante)                                             |
| Tampone di lavaggio (50x)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1 da 20 mL      | Bianco           | Verde                  | concentrato 50 x Tris, NaCl, Tween 20, sodio azide > 0,1 % (conservante)                                                                                    |
| <b>PRONTI PER L'USO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                 |                  |                        |                                                                                                                                                             |
| Componente                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Quantità        | Colore del tappo | Colore della soluzione | Descrizione / Componenti                                                                                                                                    |
| Controllo negativo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1 da 1,5 mL     | Verde            | Incolore               | Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)                                                                     |
| Controllo positivo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1 da 1,5 mL     | Rosso            | Giallo                 | Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)                                                                     |
| Calibratore cut-off                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 1 da 1,5 mL     | Blu              | Giallo                 | Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)                                                                     |
| Calibratori                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 6 da 1,5 mL     | Bianco           | Giallo *               | Concentrazione di ciascun calibratore: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/mL. Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante) |
| Coniugato, IgG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1 da 15 mL      | Blu              | Blu                    | Componente: Immunoglobuline anti-umane coniugate con perossidasi di rafano, albumina sierica bovina (BSA)                                                   |
| Substrato TMB                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1 da 15 mL      | Nero             | Incolore               | Tetrametilbenzidina stabilizzata e perossido di idrogeno (TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )                                                               |
| Soluzione di stop                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 1 da 15 mL      | Bianco           | Incolore               | Acido cloridrico 1 M                                                                                                                                        |
| Microstrip                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 12 x 8 pozzetti | Nds              | Nds                    | Con pozzetti frazionabili singolarmente. Per il rivestimento si veda il punto 1.                                                                            |
| * Il colore si intensifica con la concentrazione                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                 |                  |                        |                                                                                                                                                             |
| <b>MATERIALE OCCORRENTE, MA NON FORNITO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                 |                  |                        |                                                                                                                                                             |
| Lettore di piastre microtitolo da 450 nm per la lettura dei filtri e filtri di riferimento raccomandati da 620 nm (600-690 nm). Recipienti in vetro (cilindri da 100-1000 mL), provette da test per diluizioni. Mixer Vortex, pipette di precisione (10, 100, 200, 500, 1000 µL) o pipette multiple regolabili (100-1000 µL). Dispositivo di lavaggio delle micropiastre (pipetta ripetitrice o multicanale da 300 µL o sistema automatizzato), carta assorbente. I nostri test sono stati studiati per essere eseguiti con acqua depurata, conformemente alle disposizioni della Farmacopea degli Stati Uniti (USP 26 - NF 21) e della Farmacopea Europea (Eur.Ph. 4a ed.). |                 |                  |                        |                                                                                                                                                             |

### 4 Conservazione e stabilità

I reagenti del kit e la micropiastre devono essere conservati a 2-8 °C/35,6-46,4 °F nei rispettivi flaconi originali. Le soluzioni diluite sono stabili per un mese a 2-8 °C/35,6-46,4 °F. Rispettare le date di scadenza specificate sulla confezione e sulle etichette dei singoli componenti.

Non utilizzare componenti scaduti! Evitare di esporre la soluzione di substrato TMB alla luce diretta. Conservare le micropiastre sempre chiuse nella relativa pellicola d'imballaggio provvista di bustina di agente essiccante.

## 5 Avvertenze e misure precauzionali

### 5.1 Rischio per la salute

**QUESTO PRODOTTO DEVE ESSERE UTILIZZATO ESCLUSIVAMENTE PER DIAGNOSI IN VITRO.** L'impiego è riservato al personale che è stato debitamente informato e istruito sull'uso della diagnosi in vitro. Sebbene questo prodotto non sia considerato particolarmente tossico o pericoloso nelle normali condizioni d'uso, attenersi a quanto segue per la massima sicurezza.

#### **Raccomandazioni e misure precauzionali**

I componenti del kit contengono reagenti potenzialmente irritanti per occhi, mucose o cute.

**ATTENZIONE!** Calibratori, trattamenti e tamponi contengono sodio azide ( $\text{NaN}_3$ ) come conservante.  $\text{NaN}_3$  può risultare tossico se ingerito o assorbito attraverso la pelle o gli occhi.  $\text{NaN}_3$  può reagire con piombo e rame formando azidi metallici altamente esplosivi. Dopo averlo gettato, risciacquare con una grande quantità di acqua per impedire la formazione di azidi. Si prega di fare riferimento alle procedure di decontaminazione citate dal CDC o a altre linee guida locali o nazionali.

**Non mangiare, bere o fumare durante la manipolazione del kit. Non utilizzare pipette a bocca. Indossare guanti monouso.**

I reagenti di origine umana contenuti in questo kit (controlli e calibratori) sono stati testati e trovati negativi per l'antigene superficiale dell'epatite B (HbsAg), l'epatite C e l'HIV 1 e 2. Tuttavia, nei prodotti di origine umana non si può escludere con assoluta sicurezza la presenza degli agenti patogeni indicati o di altri agenti patogeni, eventualmente non ancora noti o diagnosticati. Pertanto i controlli, i calibratori e i sieri dei pazienti sono da considerarsi potenzialmente infettivi e, di conseguenza, da manipolarsi secondo le disposizioni vigenti.

Il kit contiene le sostanze di origine animale indicate nella tabella dei componenti. Maneggiare nel rispetto delle normative nazionali.

### 5.2 Avvertenze di natura generale

Se le informazioni sul prodotto, etichette incluse, risultassero mancanti o inesatte contattare il produttore o il fornitore del kit.

Non mischiare o sostituire controlli, calibratori, coniugati o micropiastre con differenti numeri di lotto. Questo potrebbe portare a variazioni nei risultati.

Prima di cominciare il test portare tutti i componenti del kit a temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F) e miscelarli accuratamente. Rispettare rigorosamente il protocollo prescritto per l'esecuzione del test.

**Incubazione: in sistemi automatizzati si raccomanda di eseguire il test a 30 °C/86 °F.**

Non esporre mai i singoli componenti del kit a temperature superiori a 37 °C/98,6 °F.

Dispensare la soluzione di substrato sempre con puntali nuovi per evitare eventuali contaminazioni. Evitare di esporre la soluzione di substrato alla luce solare diretta. Non dispensare mai la soluzione di coniugato con puntali contaminati da altri reagenti.

**La diagnosi clinica definitiva non deve basarsi esclusivamente sui risultati di questo test, ma deve essere formulata dal medico tenendo conto di tutti i risultati clinici e di altri esami di laboratorio. La diagnosi deve essere verificata sulla base di diversi metodi diagnostici.**

## 6 Prelievo dei campioni, preparazione e conservazione

Utilizzare preferibilmente campioni di siero o di plasma citrato raccolti di recente, con aggiunta di 3,2 o 3,8% di sodio citrato come anticoagulante. Il prelievo di sangue deve essere effettuato in base ai requisiti nazionali. Non utilizzare campioni itterici, lipemici, emolizzati o contaminati da batteri. I campioni di sangue devono essere raccolti in provette pulite, asciutte e vuote. Dopo la centrifugazione, i campioni di sangue devono essere utilizzati immediatamente, oppure possono essere conservati accuratamente sigillati, per otto ore ad una temperatura compresa tra 2-8 °C/35,6-46,4 °F o congelati a -20 °C/-4 °F per lunghi periodi.

**Non utilizzare campioni anticoagulati con eparina in questo test!**

## 7 Esecuzione del test

### 7.1 Preparazione

#### **Diluizione dei reagenti concentrati:**

Diluire il tampone concentrato per la diluizione dei campioni 1:5 con acqua distillata (ad es. 20 mL e 80 mL).

Diluire i tamponi di lavaggio concentrati 1:50 con acqua distillata (ad es. 20 mL e 980 mL).

Per evitare errori si consiglia di contrassegnare i tappi dei diversi calibratori.

#### **Diluizioni dei campioni dei pazienti:**

Diluire i campioni di siero 1:101 con tampone campione diluito (1x) e miscelare (ad es. 1000 µL di tampone concentrato per la diluizione dei campioni + 10 µL di siero).

#### **Lavaggio:**

Sono necessari 20 mL di tampone di lavaggio diluito (1x) ogni 8 pozzetti oppure 200 mL ogni 96 pozzetti (ad es. 4 mL di concentrato e 196 mL di acqua distillata).

#### **Lavaggio automatizzato:**

Per la messa in funzione dello strumento e il volume morto sono da prevedersi quantità di tampone di lavaggio supplementari.

#### **Lavaggio manuale:**

Rimuovere accuratamente il liquido battendo la piastra su carta da filtro. Dispensare 300 µL di tampone di lavaggio diluito in ogni pozzetto e attendere 20 secondi. Ripetere l'operazione altre due volte.

#### **Micropiastra:**

Rimuovere i pozzetti non utilizzati e conservarli accuratamente chiusi nella busta richiudibile con bustina di agente essiccante (2-8 °C/35,6-46,4 °F).

## 7.2 Schema di dispensazione

Si consiglia di dispensare calibratori, controlli e campioni nel modo seguente:

| Per l'analisi QUANTITATIVA |       |       |     |      | Per l'analisi QUALITATIVA |    |     |   |      |
|----------------------------|-------|-------|-----|------|---------------------------|----|-----|---|------|
|                            | 1     | 2     | 3   | 4... |                           | 1  | 2   | 3 | 4... |
| <b>A</b>                   | Cal A | Cal E | P1  |      | <b>A</b>                  | NC | P2  |   |      |
| <b>B</b>                   | Cal A | Cal E | P1  |      | <b>B</b>                  | NC | P2  |   |      |
| <b>C</b>                   | Cal B | Cal F | P2  |      | <b>C</b>                  | CC | P3  |   |      |
| <b>D</b>                   | Cal B | Cal F | P2  |      | <b>D</b>                  | CC | P3  |   |      |
| <b>E</b>                   | Cal C | PC    | P3  |      | <b>E</b>                  | PC | ... |   |      |
| <b>F</b>                   | Cal C | PC    | P3  |      | <b>F</b>                  | PC | ... |   |      |
| <b>G</b>                   | Cal D | NC    | ... |      | <b>G</b>                  | P1 | ... |   |      |
| <b>H</b>                   | Cal D | NC    | ... |      | <b>H</b>                  | P1 | ... |   |      |

CalA: calibrator A

CalD: calibrator D

PC: positive control

P1: patient 1

CalB: calibrator B

CalE: calibrator E

NC: negative control

P2: patient 2

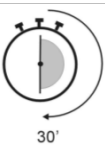
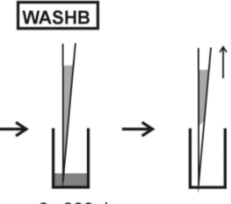
CalC: calibrator C

CalF: calibrator F

CC: cut-off calibrator

P3: patient 3

## 7.3 Fasi del test

| Pas.                        | Descrizione                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.                          | Prima di dispensare controllare che le preparazioni del passaggio 7.1 siano state eseguite.<br><br>Prima di cominciare il test portare tutti i componenti del kit a temperatura ambiente (20-32°C/68-89,6°F) e miscelarli accuratamente. Rispettare rigorosamente il protocollo prescritto per l'esecuzione del test.                                                                                                                                                                                                                                            |
| 2.                          | Applicare i passaggi seguenti in base ai risultati desiderati per l'analisi quantitativa/qualitativa:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>CONTROLLI E CAMPIONI</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 3.                          |  <p>Seguendo le indicazioni del paragrafo 7.2 dispensare nei rispettivi pozzetti 100 µL di:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Calibratori (da CAL.A a CAL.F) per analisi <b>QUANTITATIVA</b> o</li> <li>b. Calibratore cut-off (CC) per analisi <b>QUALITATIVA</b> e 100 µL di:             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Controllo negativo (NC) e controllo positivo (PC) e</li> <li>• Siero diluito del paziente (P1, P2...)</li> </ul> </li> </ul> |
| 4.                          |  <p>Incubare per 30 minuti a temperatura 20-32 °C/68-89,6 °F.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 5.                          |  <p>Lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio (diluito 1:50).</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

### CONIUGATO

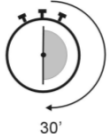
6.

CONJ



Dispensare 100 µL di coniugato in ciascun pozzetto.

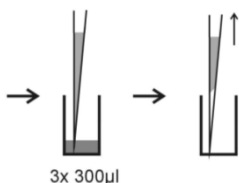
7.



Incubare per 30 minuti a temperatura 20-32 °C/68-89,6 °F.

8.

WASHB



Lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio (diluito 1:50).

### SUBSTRATO

9.

SUB



Dispensare 100 µL di substrato TMB in ciascun pozzetto.

10.

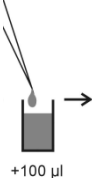


Incubare per 30 minuti a temperatura 20-32 °C/68-89,6 °F, proteggere da sorgenti luminose intense.

### STOP

11.

STOP



Dispensare 100 µL di soluzione stop in ciascun pozzetto, rispettando la successione in cui è stato aggiunto il substrato.

12.

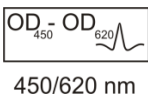


Incubare per almeno 5 minuti.

13.

Agitare delicatamente la piastra per 5 secondi.

14.



Misurare la densità ottica a 450 nm entro 30 minuti. si raccomanda di utilizzare la differenza di densità ottica a 450 e 620 nm).

## 8 Analisi quantitativa e qualitativa

Per l'**analisi quantitativa** dei campioni riportare in ordinata (asse delle y) la media dei **valori delle OD degli standard e in assissa (asse delle x)** le rispettive concentrazioni in U/mL. Si consiglia di utilizzare l'elaborazione a 4 parametri in scala log/lin. Dalla OD (densità ottica) di ogni campione, leggere la corrispondente concentrazione anticorpale espressa in U/mL.

| Range normale | Intermedio   | Risultati positivi |
|---------------|--------------|--------------------|
| < 12 U/mL     | 12 - 18 U/mL | >18 U/mL           |

### Esempio di analisi

**NON utilizzare questo esempio per l'interpretazione dei risultati dei pazienti.**

| Calibratori IgG | OD 450/620 nm | CV % (Varianza) |
|-----------------|---------------|-----------------|
| 0 U/mL          | 0,025         | 0,0             |
| 3 U/mL          | 0,139         | 3,5             |
| 10 U/mL         | 0,283         | 4,3             |
| 30 U/mL         | 0,598         | 4,0             |
| 100 U/mL        | 1,224         | 3,6             |
| 300 U/mL        | 2,123         | 2,8             |

### Esempio di calcolo

| Paziente | Replicati (OD) | Media (OD) | Risultato (U/mL) |
|----------|----------------|------------|------------------|
| P 01     | 0,793/0,801    | 0,797      | 47,7             |
| P 02     | 0,308/0,333    | 0,321      | 12,1             |

I campioni con valori superiori al massimo range del calibratore devono essere annotati come > Max, diluiti adeguatamente e nuovamente testati. I campioni con valori inferiori al range del calibratore devono essere annotati come < Min.

Si prega di desumere i dati specifici dei lotti dal certificato di controllo allegato. I laboratori di analisi sono tenuti ad eseguire controlli di qualità interni con propri controlli e/o pool di sieri ai sensi della regolamentazione nazionali.

È consigliabile che ogni laboratorio stabilisca i propri range di riferimento normali sulla base di propri metodi, controlli, attrezzatura e popolazione di pazienti.

Se i valori dei controlli non rispondono ai criteri il test non è valido e deve essere ripetuto.

Verificare i seguenti problemi tecnici: date di scadenza dei reagenti (preparati), condizioni di conservazione, pipette, dispositivi, fotometri, condizioni di incubazione e metodi di lavaggio.

Se i campioni testati mostrano valori aberranti o deviazioni di qualsiasi tipo oppure si evidenzia che i criteri di convalida non vengono rispettati senza causa apparente contattare il produttore o il fornitore del kit.

Per l'interpretazione qualitativa leggere la densità ottica del calibratore cut off e dei sieri dei pazienti. Confrontare le OD. dei campioni con le OD. del calibratore cut off. Per l'interpretazione qualitativa si raccomanda di considerare come equivoci i sieri con un range intorno al 20% del valore di cut off. Tutti i campioni con OD. più alte sono considerati positivi, campioni con OD. più basse sono considerati negativi.

|                  |                  |   |                                |
|------------------|------------------|---|--------------------------------|
| <b>Negativo:</b> | OD paziente      | < | 0,8 x OD cut-off               |
| <b>Equivoco:</b> | 0,8 x OD cut-off | ≤ | OD paziente ≤ 1,2 x OD cut-off |
| <b>Positivo:</b> | OD paziente      | > | 1,2 x OD cut-off               |



## 9 Dati tecnici

|                              |                                                                                           |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Materiale del campione:      | Siero o plasma citrato                                                                    |
| Volume del campione:         | 10 µL di siero per diluizione 1:101 con 1x tampone per la diluizione dei campioni diluito |
| Tempo totale di incubazione: | 90 minuti a temperatura ambiente 20-32 °C/68-89,6 °F                                      |
| Range di misura:             | 0-300 U/mL                                                                                |
| Sensibilità analitica:       | 1,0 U/mL                                                                                  |
| Conservazione:               | a 2-8 °C/35,6-46,4 °F nei flaconi originali                                               |
| Numero di determinazioni:    | 96 tests                                                                                  |

## 10 Dati del test/Caratteristiche del test

### 10.1 Sensibilità analitica

Il limite di rilevamento determinato dalla verifica per 8 volte di almeno 8 campioni negativi di siero e di una determinazione di 60 volte del tampone campione è pari a 1,0 U/ml.

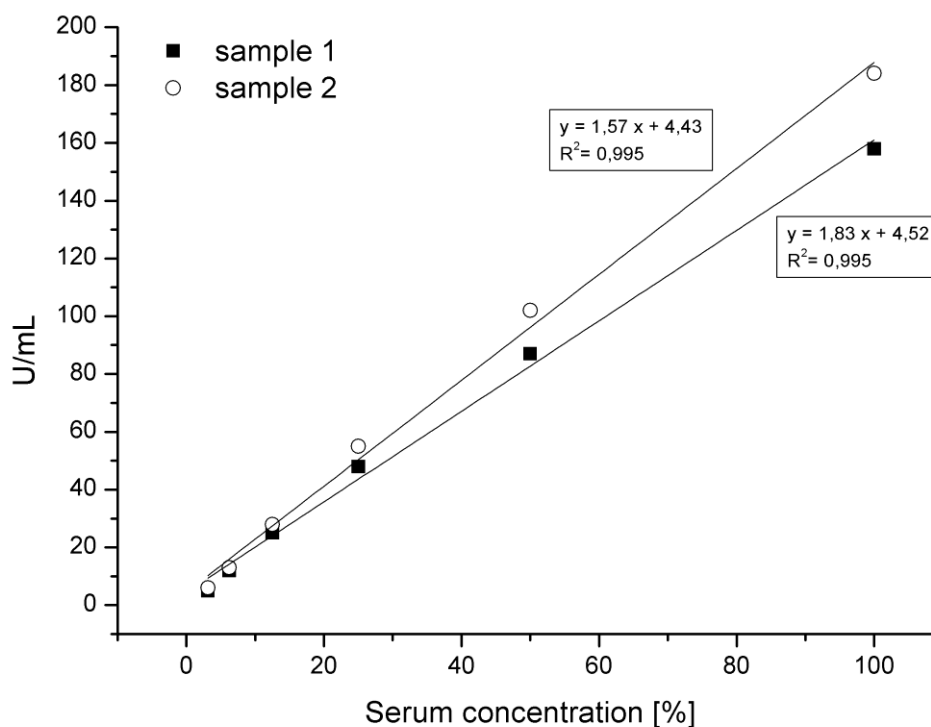
### 10.2 Specificità e sensibilità

Grazie all'utilizzo di campioni di siero definiti clinicamente con stato immunitario noto è stata determinata una sensibilità diagnostica del 91% e una specificità del 97% per l'**AESKULISA® HiT II**.

### 10.3 Linearità

Per determinare la linearità dell'**AESKULISA® HiT II**, sono state effettuate misurazioni in serie delle diluizioni del siero. I risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli previsti, che erano stati calcolati in base al quoziente del valore misurato della concentrazione successiva più elevata e al fattore di diluizione 2. Il recupero è la percentuale del valore misurato rispetto a quello previsto.

| Campioni n° | Diluizione | Concentrazione sierica | Concentrazione misurata (U/mL) | Concentrazione prevista (U/mL) | Recupero (%) |
|-------------|------------|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------|
| 1           | 1 / 100    | 100%                   | 184                            | 184                            | 100,0        |
|             | 1 / 200    | 50%                    | 101,5                          | 91,8                           | 110,6        |
|             | 1 / 400    | 25%                    | 55,3                           | 50,8                           | 108,9        |
|             | 1 / 800    | 12,5%                  | 28,4                           | 27,6                           | 102,9        |
|             | 1 / 1600   | 6,25%                  | 13,4                           | 14,2                           | 94,4         |
| 2           | 1 / 100    | 100%                   | 158                            | 158                            | 100,0        |
|             | 1 / 200    | 50%                    | 86,9                           | 78,9                           | 110,1        |
|             | 1 / 400    | 25%                    | 48                             | 43,5                           | 110,3        |
|             | 1 / 800    | 12,5%                  | 24,7                           | 24                             | 102,9        |
|             | 1 / 1600   | 6,25%                  | 11,6                           | 12,4                           | 93,5         |



I campioni di siero analizzati mostrano una correlazione lineare fra la diluizione dei campioni e la concentrazione di anticorpi. Tuttavia, a causa della natura eterogenea degli autoanticorpi umani, potrebbero esserci campioni dal comportamento non lineare.

## 10.4 Precisione

Per determinare la precisione del test, la variabilità (intra e inter test) è stata valutata esaminando la sua riproducibilità su tre campioni di siero, selezionati per rappresentare un range sulla curva standard.

| Varianza intra-dosaggio |              |        |
|-------------------------|--------------|--------|
| Campioni n°             | Media (U/mL) | CV (%) |
| 1                       | 13           | 5      |
| 2                       | 22           | 5      |
| 3                       | 63           | 4      |
| 4                       | 192          | 7      |

| Varianza inter-dosaggio |              |        |
|-------------------------|--------------|--------|
| Campioni n°             | Media (U/mL) | CV (%) |
| 1                       | 13           | 8      |
| 2                       | 22           | 6      |
| 3                       | 63           | 6      |
| 4                       | 192          | 11     |

## 10.5 Calibratura

Mancando uno standard di riferimento internazionale, il sistema di misura quantitativo è calibrato in unità arbitrari. I risultati vengono espressi in U/mL.

## 11 Bibliografia

**Warkentin T.E. (2005).** New approaches to the diagnosis of heparin induced thrombocytopenia. Chest 127: 35-45.

**Franchini M. (2005).** Heparin induced thrombocytopenia: an update. Thrombosis Journal 3: 14.

**Warkentin T.E. (2004).** Heparin induced thrombocytopenia. Diagnosis and treatment Circulation 110: 454-458.

**Lindhoff-Last E., Gerdson F., Ackermann H., Bauersachs R. (2001).** Determination of heparin-platelet factor 4-IgG antibodies improves diagnosis of heparin induced thrombocytopenia. British Journal of Haematology 113: 886-890.

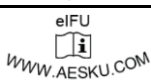
**Warkentin T.E., Chong B.H., Greinacher A. (1998).** Heparin induced thrombocytopenia: Towards consensus. Thrombosis and Haemostasis 79: 1-7

**Ziporen L., Li Z.Q., Park K.S., Sabnekar P., Liu W.Y., Arepally G., Shoenfeld Y., Kieber-Emmons T., Cines D.B., Poncz M. (1998).** Defining an antigenic epitope on platelet factor 4 associated with heparin-induced thrombocytopenia. Blood 92, 9: 3250-3259.

**Greinacher A., Poetzsch B., Amiral J., Dummel V., Eichner A., Mueller-Eckhardt C. (1994).** Heparin-associated thrombocytopenia: isolation of the antibody and characterization of a multimolecular PF4-heparin complex as the major antigen. Thrombosis and Haemostasis 71: 247-251.

**Chong B.H., Fawaz I., Chesterman C.N., Berndt M.C. (1989).** Heparin induced thrombocytopenia: mechanism of interaction of the heparin-dependent antibody with platelets. British Journal of Haematology 73: 235-240.

## 12 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 elettroniche per l'uso<br>- Voir les instructions d'utilisation électronique<br>- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten<br>- Seguir as instruções electrónicas de utilização | - See electronic instructions for use<br>- Siga las instrucciones electrónicas de uso<br>- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης |
|    | - Da utilizzarsi entro<br>- Utiliser 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>CO-CAL</b>                                                                       | - Calibratore cut-off<br>- Etalon Seuil<br>- Grenzwert Kalibrator<br>- Calibrador de cut-off                                                                                                                | - Cut off Calibrator<br>- Calibrador de cut-off<br>- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης                                           |
| <b>CON +</b>                                                                        | - Controllo positivo<br>- Contrôle Positif<br>- Positiv Kontrolle<br>- Controllo positivo                                                                                                                   | - Positive Control<br>- Control Positivo<br>- Θετικός ορός ελέγχου                                                                     |
| <b>CON -</b>                                                                        | - Controllo negativo<br>- Contrôle Négatif<br>- Negativ Kontrolle<br>- Controllo 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>- Conjugué<br>- Konjugat<br>- Conjugado                                                                                                                                                      | - Conjugate<br>- Conjugado<br>- Σύζευγμα                                                                                               |
| <b>MP</b>                                                                           | - Micropiastra rivestita<br>- Microplaque sensibilisée<br>- Beschichtete Mikrotiterplatte<br>- Microplaca revestida                                                                                         | - Coated microtiter plate<br>- Microplaca sensibilizada<br>- Επικαλυμμένη μικροπλάκα                                                   |
| <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                                                                 |