AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

LIBRETTO
DI ISTRUZIONI

AESKULISA® Measles Virus IgG / IgM
Ref 6072 / 6073



Aggiornamenti	
Ultima versione	V.004 del 13/03/2025
Versione precedente	V.003 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
Mail: info@aesku.com

Indice dei contenuti

1 Destinazione d'uso 1
2 Significato diagnostico 1
3 Principio del test *AESKULISA*® 2
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) 5
8.2.5 Tampone di lavaggio (conc. 50x) 5
8.2.6 Coniugato POD anti IgA, IgG o IgM umane (pronto all'uso) 5
8.2.7 Tampone substrato (pronto all'uso) 5
8.2.8 Reagente bloccante (pronto all'uso) 5
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
8.6 Diagnostica del liquido cerebrospinale 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 9
9.5 Valutazione qualitativa 9
9.6 Criteri di validità 9
9.7 Interpretazione dei risultati 10
10 Caratteristiche delle prestazioni di *AESKULISA*® 10
10.1 Sensibilità e specificità analitiche 10
10.2 Sensibilità e specificità diagnostica 11
10.3 Valori attesi 11
10.4 Ripetibilità 11
11 Istruzioni di sicurezza 12
11.1 Avvertenze e precauzioni 12
11.2 Smaltimento 13
12 Bibliografia 13
13 Simboli normativi 14

1 Destinazione d'uso

I test *AESKULISA*® Measles Virus IgG e IgM sono immunodosaggi qualitativi e quantitativi per la determinazione di anticorpi IgG e IgM umani diretti contro il virus del morbillo nel siero o nel plasma. Il test *AESKULISA*® Measles Virus IgM supporta il rilevamento delle infezioni acute. Il test *AESKULISA*® Measles Virus IgG permette la conferma di un contatto patogeno e supporta la determinazione dello stato immunitario. Il test *AESKULISA*® Measles Virus IgG viene utilizzato anche per la determinazione di anticorpi intratecali nel *Liquor cerebrospinalis*.

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 virus del morbillo è un virus ssRNA umano patogeno, avente dimensioni di circa 120-140 nm, della famiglia dei *Paramyxoviridae*. L'agente patogeno del morbillo è diffuso in tutto il mondo e causa ripetutamente epidemie locali. La trasmissione del virus del morbillo avviene principalmente attraverso goccioline infette o il contatto diretto.

In caso di infezione da virus del morbillo si assiste normalmente a un decorso bifasico. Dopo un periodo di incubazione di 8-10 giorni, si manifesta prima lo stadio prodromico, privo di caratteristiche specifiche, con infiammazione delle mucose delle vie respiratorie superiori e della congiuntiva oculare. Possono comparire anche febbre e nausea, mal di gola e mal di testa. Le macchie di Koplik sulla mucosa delle guance di fronte ai molari anteriori, tipiche del morbillo, si osservano piuttosto raramente. La malattia passa poi alla classica fase esantematica, che spesso inizia con un arrossamento delle mucose (enantema) sul palato e si manifesta infine come un'eruzione maculopapulare (esantema) su tutto il corpo. Spesso questo fenomeno si accompagna a gonfiore dei linfonodi (linfoadenopatia). Dopo pochi giorni i sintomi regrediscono. I soggetti immunodepressi possono non manifestare la tipica eruzione cutanea (morbillo bianco).

Mentre i due terzi dei casi si risolvono senza complicanze, circa il 20-30% di essi si accompagna a sintomi aggiuntivi, soprattutto diarrea, infiammazione dell'orecchio medio e infiammazione polmonare. Inoltre, possono verificarsi numerose altre complicanze. L'infiammazione corneale (cheratite) conseguente all'infezione da virus del morbillo è considerata in alcune regioni una delle cause più comuni di cecità nei bambini. Come conseguenza di un'infezione da virus del morbillo, l'encefalite si manifesta in circa lo 0,1% dei pazienti, e non raramente ha esito fatale. In rari casi, i bambini con immunodeficienze congenite o acquisite possono sviluppare una particolare forma di encefalite (encefalite morbillosa da corpi inclusi o MIBE). Questa complicanza si manifesta solitamente entro un anno dall'infezione da virus del morbillo con crisi focali difficili da trattare e di solito ha esito fatale in pochi mesi. La panencefalite sclerosante subacuta (SSPE) è una complicanza tardiva che causa un'encefalite generalizzata con demielinizzazione e danni assai gravi. La malattia può manifestarsi da mesi ad anni dopo un'infezione da virus del morbillo ed è generalmente fatale.

Da diversi anni sono disponibili vaccini vivi attenuati contro morbillo, parotite, rosolia e varicella. In Germania, la Commissione permanente per le vaccinazioni (STIKO) raccomanda l'immunizzazione dei bambini dai 12 mesi in su.

Per la diagnosi dell'infezione da virus del morbillo sono disponibili metodi di determinazione diretta e indiretta. Nella diagnostica di routine, la determinazione indiretta dell'infezione da virus del morbillo e la determinazione dello stato immunitario avvengono mediante la rilevazione sierologica degli anticorpi specifici del virus del morbillo.

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 formatisi. 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 *AESKULISA*® Measles Virus IgG e IgM si basa sull'uso di virus del morbillo inattivati (ceppo Edmonston).

5 Componenti del test *AESKULISA*®

Componente del test	Colore della soluzione	Colore del coperchio	Quantità / Volume
Strisce da microtitolazione separabili MP ciascuna con otto pozzetti rivestiti (per un totale di 96), 1 vassoio. Il materiale di rivestimento specifico del test è inattivato.	-	-	12 unità
Calibratori A - D CAL (pronti all'uso) Siero umano o anticorpo chimerico in soluzione proteica (BSA); colorati; conservante ProClin. 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
Controllo positivo CON + (pronto all'uso) Siero umano o anticorpo chimerico in soluzione proteica (BSA); colorati; conservante ProClin.	giallo*	rosso	1 da 1,5 ml
Controllo negativo CON – (pronto all'uso) Siero umano o anticorpo chimerico in soluzione proteica (BSA); colorati; conservante ProClin.	giallo*	verde	1 da 1,5 ml
Tampone di diluizione dei campioni SB 5x **conc. 5x** Soluzione proteica (BSA); colorato; conservante sodio azide < 0,1%. Il tampone dei campioni per gli immunodosaggi *AESKULISA*® IgM contiene Rf-Absorbent.	IgG, IgA: giallo IgM: verde	bianco	1 da 20 ml

Tampone di lavaggio WASHB 50x **conc. 50x** Soluzione con Tween 20; colorato; conservante ProClin.	verde	bianco	1 da 20 ml
Coniugato anti IgA, IgG o IgM umane CONJ (pronto all'uso) 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 IgG: blu IgM: verde	IgA: rosso IgG: blu IgM: verde	1 da 15 ml
Tampone substrato SUB (pronto all'uso) TMB/H_2O_2 stabilizzato.	incolore	nero	1 da 15 ml
Reagente bloccante STOP (pronto all'uso) 1 M di acido cloridrico (HCl).	incolore	bianco	1 da 15 ml
Certificato di controllo qualità	-	-	1 unità
Istruzioni per l'uso	-	-	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 x 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 µl + 1000 µl) 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 ≤ -20 °C / -4 °F. Evitare il ripetuto scongelamento e congelamento.

8.4 Esecuzione del test

8.4.1 Schema di pipettamento

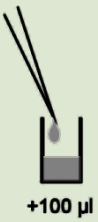
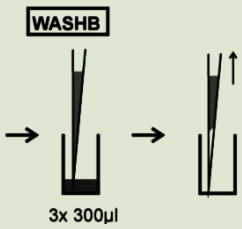
A seconda dell'impiego quantitativo o qualitativo previsto per l'immunodosaggio *AESKULISA*®, si raccomanda il seguente schema di pipettaggio:

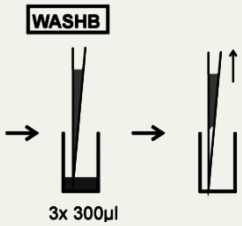
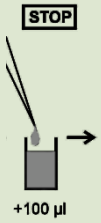
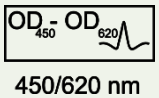
	Impiego quantitativo						Impiego qualitativo				
	1	2	3	4			1	2	3	4	
A	CAL A	P3				A	CON–	P5			
B	CAL B	P4				B	CAL B	P6			
C	CAL C	P5				C	CAL B	…			
D	CAL D	P6				D	CON+				
E	CON–	…				E	P1				
F	CON+					F	P2				
G	P1					G	P3				
H	P2					H	P4				

	CAL A	Calibratore A				CON–	Controllo negativo			
	CAL B	Calibratore B				CAL B	Controllo *cut-off*			
	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 a 20-32 °C/68-89,6 °F
3. Lavare 3 volte		Aspirare il liquido dai pozzetti; 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 a 20-32 °C/68-89,6 °F
6. Lavare 3 volte		Aspirare il liquido dai pozzetti; 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 a 20-32 °C/68-89,6 °F, 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.

8.6 Diagnostica del liquido cerebrospinale

AESKULISA® Measles Virus IgG è utilizzato per la rilevazione di anticorpi intratecali nel *liquor cerebrospinalis*. L'applicazione è descritta in un libretto di istruzioni separato, disponibile su richiesta.

9 Valutazione di *AESKULISA*®

9.1 Standardizzazione

Il test *AESKULISA*® Measles Virus IgG è stato standardizzato secondo lo standard internazionale 97/648 dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). I risultati quantitativi sono indicati in mIU/ml. La calibrazione del test *AESKULISA*® Measles Virus 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 del l'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 +/- 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.

Un'infezione primaria è solitamente associata alla formazione di anticorpi IgM e IgG e sieroconversione. Dopo l'infezione, l'attività degli anticorpi IgM di solito diminuisce di nuovo. Al contrario, l'attività IgG responsabile della protezione immunitaria di solito persiste per tutta la vita

Schema di interpretazione di base dei risultati sierologici

Attività IgM	Attività IgG	Valutazione
negativo	negativo	Non sono rilevabili anticorpi specifici. 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 un'infezione pregressa / latente.

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® Measles Virus IgG	3,92 mIU/ml	24,51 mIU/ml
AESKULISA® Measles Virus IgM	0,42 U/ml	2,33 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*® Measles Virus IgG e IgM, sono stati analizzati più di 160 sieri di donatori di sangue e persone con sospetta infezione da virus del morbillo; i risultati sono stati confrontati con quelli degli immunodosaggi IgG e IgM del virus del morbillo di un importante competitor europeo.

	Sensibilità	Specificità
AESKULISA® Measles Virus IgG	> 99%	> 99%
AESKULISA® Measles Virus 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*® Measles Virus IgG e IgM ha mostrato la seguente distribuzione:

AESKULISA®	Numero di campioni	negativo	borderline	positivo
Measles Virus IgG	100	30 (30,0%)	7 (7,0%)	63 (63,0%)
Measles Virus IgM	100	100 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

10.4 Ripetibilità

Per determinare la precisione e la riproducibilità dei risultati delle analisi con *AESKULISA*® Measles Virus 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® Measles Virus IgG

Campione	Estinzione (DO)	Attività IgG	Intra-test CV (mIU/ml)	Inter-test CV (mIU/ml)	CV (mIU/ml) da lotto a lotto
Siero 1	0,276	96,3 mIU/ml	4,9 %	8,2 %	10,0 %
Siero 2	0,469	183,4 mIU/ml	4,9 %	6,8 %	5,2 %
Siero 3	0,922	469,9 mIU/ml	5,3 %	6,4 %	6,4 %
Siero 4	1,329	921,2 mIU/ml	5,2 %	7,4 %	7,8 %
Siero 5	1,761	1866,3mIU/ml	6,1 %	11,7 %	16,3 %

AESKULISA® Measles Virus 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	0,488	9,5 U/ml	2,9 %	5,1 %	9,8 %
Siero 2	0,576	12,3 U/ml	3,8 %	9,6 %	8,3 %
Siero 3	0,660	14,5 U/ml	3,6 %	5,9 %	5,5 %
Siero 4	1,134	29,5 U/ml	3,7 %	5,3 %	4,3 %
Siero 5	1,972	76,4 U/ml	8,3 %	10,9 %	13,4 %

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 (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

Mankertz, A. (2014) Masern. AWMF-Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen.

Porter, A., Goldfarb, J. (2019) Measles: A dangerous vaccine-preventable disease returns. Cleve. Clin. J. Med. *86*, 393 - 8.

13 Simboli normativi

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