

AESKULISA[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

LIBRETTO DI ISTRUZIONI

AESKULISA[®] Herpes Simplex Virus IgG / IgM
Ref 6042 / 6043 / 6045 / 6048



Aggiornamenti	
Ultima versione	V.003 del 07/04/2021
Versione precedente	V.002 del 20/01/2020
Capitolo modificato	1; 10; 11.1
Motivo delle modifiche	IVDR Attualizzazione



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel.: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com

Indice dei contenuti

1	Destinazione d'uso	3
2	Significato diagnostico	3
3	Principio del test <i>AESKULISA</i> ®	4
4	Antigeni	4
5	Componenti del test <i>AESKULISA</i> ®	4
6	Materiale aggiuntivo richiesto.....	5
7	Immagazzinamento e durata di conservazione	5
8	Esecuzione del test <i>AESKULISA</i> ®	5
8.1	Avvertenze generali	5
8.2	Preparazione dei reagenti.....	6
8.2.1	Strisce da microtitolazione (pronte all'uso).....	6
8.2.2	Calibratori (pronti all'uso)	6
8.2.3	Controlli (pronti all'uso)	6
8.2.4	Tampone di diluizione dei campioni (conc. 5x).....	7
8.2.5	Tampone di lavaggio (conc. 50x)	7
8.2.6	Coniugato POD anti IgA, IgG o IgM umane (pronto all'uso)	7
8.2.7	Tampone substrato (pronto all'uso).....	7
8.2.8	Reagente bloccante (pronto all'uso).....	7
8.3	Preparazione del campione	7
8.3.1	Materiale dei campioni	7
8.3.2	Diluente per campioni	7
8.3.3	Assorbimento del fattore reumatoide con <i>AESKULISA</i> ® IgM.....	7
8.3.4	Conservazione dei campioni	8
8.4	Esecuzione del test.....	8
8.4.1	Schema di pipettamento	8
8.4.2	Svolgimento del test	8
8.5	Esecuzione con applicazione automatica	10
8.6	Diagnostica del liquido cerebrospinale.....	10
9	Valutazione di <i>AESKULISA</i> ®	10
9.1	Standardizzazione	10
9.2	Valutazione quantitativa.....	10
9.3	Intervallo dei valori limite.....	10
9.4	Intervalli di misura.....	11
9.5	Valutazione qualitativa	11
9.6	Criteri di validità	11
9.7	Interpretazione dei risultati	11
10	Caratteristiche delle prestazioni di <i>AESKULISA</i> ®	13
10.1	Sensibilità e specificità analitiche	13
10.2	Sensibilità e specificità diagnostica	13
10.3	Valori attesi.....	13
10.4	Ripetibilità	14
11	Istruzioni di sicurezza	15
11.1	Avvertenze e precauzioni.....	15
11.2	Smaltimento.....	16
12	Bibliografia.....	16

1 Destinazione d'uso

I test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG e IgM sono immunodosaggi qualitativi e quantitativi per la determinazione di anticorpi IgG e IgM umani diretti contro i virus dell'herpes simplex 1 e 2 nel siero o nel plasma. Il test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgM supporta il rilevamento delle infezioni acute. Il test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG permette la conferma di un contatto patogeno e supporta il rilevamento dello stato immunitario.

I test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG ed AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG sono immunodosaggi qualitativi e quantitativi per la determinazione di anticorpi IgG umani diretti contro i virus dell'herpes simplex 1 (HSV 1) o dell'herpes simplex 2 (HSV 2) nel siero o nel plasma. I test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG ed AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG supportano la determinazione dello stato immunitario e la tipizzazione di un'infezione da HSV.

I test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG, AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG ed AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG vengono utilizzati 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

I virus dell'herpes simplex 1 (HSV 1) e 2 (HSV 2) sono virus patogeni umani della famiglia *Herpesviridae*, noti anche come herpes virus 1 (HHV 1) ed herpes virus umano 2 (HHV 2), diffusi in tutto il mondo. La trasmissione del virus dell'herpes simplex 1 (HSV 1) avviene principalmente attraverso il contatto con la saliva, oppure infezioni da striscio. Di conseguenza, un alto rischio d'infezione con HSV 1 proviene da persone con *Herpes labialis*. Il virus dell'herpes simplex 2 (HSV 2) si trasmette generalmente attraverso il contatto con le mucose. Pertanto, l'infezione attraverso i rapporti sessuali ha un ruolo cruciale nella diffusione di HSV 2.

I virus dell'herpes simplex causano diverse patologie da herpes simplex, tra cui *Herpes labialis* ed *Herpes genitalis*, ma anche encefalite da herpes simplex e, nei neonati, *Herpes neonatorum*. Le infezioni primarie da HSV 1 sono al 90% inapparenti dal punto di vista clinico. Circa il 10% dei soggetti infetti sviluppa infiammazioni della cornea e della congiuntiva, nonché le caratteristiche vesciche di herpes sulle labbra (*Herpes labialis*). Queste eruzioni pustolose possono diffondersi sulla pelle eczematosa con il rischio di diventare fatali. Tra le altre complicazioni vi sono l'encefalite o la meningoencefalite. Le infezioni primarie da HSV 2 si manifestano in circa il 12% dei casi con aborti spontanei, vulvovaginiti o efflorescenze dello scroto del pene (*Herpes genitalis*). Dopo un'infezione, i virus dell'herpes simplex persistono nel corpo per tutta la vita. Anche dopo un periodo di latenza di molti anni, indebolimenti del sistema immunitario potrebbero provocarne la riattivazione.

Per la diagnosi di un'infezione da virus dell'herpes simplex sono disponibili metodi di determinazione diretta e indiretta. Nella diagnostica di routine, la determinazione indiretta di infezioni da virus dell'herpes simplex avviene mediante la rilevazione sierologica degli anticorpi IgG e IgM specifici di HSV.

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 il test Aeskulisa® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG e IgM si basa sull'uso di una miscela di virus dell'herpes simplex HSV 1 (ceppo MacIntyre) e HSV 2 (ceppo MS) inattivati.

La determinazione degli anticorpi con il test Aeskulisa® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG si basa sull'uso di un frammento interno purificato per affinità della glicoproteina gG1 di HSV 1. La determinazione degli anticorpi con il test Aeskulisa® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG si basa sull'uso di un frammento interno purificato per affinità della glicoproteina gG2 di HSV 2.

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 ₂ O 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 (35-46 °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 (35-46 °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 / 99 °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 / 35-46 °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

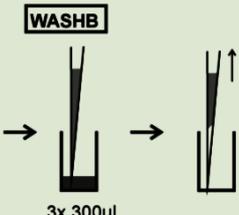
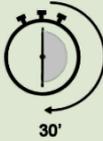
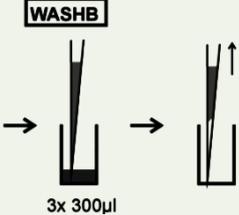
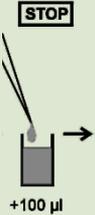
A seconda dell'impiego quantitativo o qualitativo previsto per l'immunodosaggio AESKULISA®, si raccomanda il seguente schema di pipettaggio:

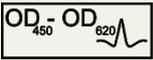
	Impiego quantitativo					Impiego qualitativo			
	1	2	3	4		1	2	3	4
A	CAL A	P3			A	CON-	P5		
B	CAL B	P4			B	CAL B	P6		
C	CAL C	P5			C	CAL B	...		
D	CAL D	P6			D	CON+			
E	CON-	...			E	P1			
F	CON+				F	P2			
G	P1				G	P3			
H	P2				H	P4			
	CAL A	Calibratore A				CON-	Controllo negativo		
	CAL B	Calibratore B				CAL B	Controllo <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 a 20-32 °C/68-89 °F

<p>3. Lavare 3 volte</p>		<p>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.</p>
<p>4. Aggiunta del coniugato</p>		<p>Aggiungere 100 µl di coniugato pronto all'uso per ogni pozzetto.</p>
<p>5. Incubazione del coniugato</p>		<p>Incubare per 30 +/- 3 minuti a 20-32 °C/68-89 °F</p>
<p>6. Lavare 3 volte</p>		<p>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.</p>
<p>7. Aggiunta del tampone substrato</p>		<p>Aggiungere 100 µl di tampone substrato pronto all'uso per ogni pozzetto.</p>
<p>8. Incubazione del tampone substrato</p>		<p>Incubare per 30 +/- 3 minuti a 20-32 °C/68-89 °F, proteggere dalla luce intensa.</p>
<p>9. Aggiunta del reagente bloccante</p>		<p>Aggiungere 100 µl di reagente bloccante pronto all'uso per ogni pozzetto nella sequenza di aggiunta del tampone substrato.</p>
<p>10. Incubazione</p>		<p>Opzionale: incubare 5 minuti.</p>
<p>11. Miscelazione</p>		<p>Scuotere la piastra con cautela per 5 secondi.</p>

12. Analisi	 450/620 nm	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

I test Aeskulisa® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG, Aeskulisa® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG ed Aeskulisa® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG vengono utilizzati per la determinazione 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

La calibrazione del test Aeskulisa® Herpes Simplex Virus IgG e IgM è stata eseguita su sieri di riferimento interni. 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.

Nel corso di un'infezione primaria da HSV, dapprima si formano anticorpi IgM. La produzione di anticorpi IgG segue con un certo ritardo. Pertanto, un'infezione primaria da HSV può essere rilevata sierologicamente da una sieroconversione. Gli anticorpi IgM contro i virus dell'herpes simplex possono persistere per mesi e complicare l'interpretazione degli esiti sierologici. Questi, inoltre, si osservano regolarmente nelle riattivazioni di HSV. Gli anticorpi IgM contro l'HSV poi possono manifestarsi quale esito di una stimolazione policlonale da parte di altri agenti patogeni. Gli anticorpi IgG specifici per HSV si conservano generalmente per tutta la vita. Non si possono tuttavia escludere reazioni incrociate di anticorpi contro altri virus dell'herpes (per esempio VZV, CMV, EBV).

Un importante ambito di applicazione della sierologia – anche durante il periodo di latenza – è la determinazione di anticorpi IgG specifici per il sottotipo HSV per l'identificazione di potenziali portatori di HSV che potrebbero trasmettere il virus a soggetti sensibili. In particolare, le determinazioni di IgG specifiche per il sottotipo HSV 2 vengono utilizzate per l'identificazione di donne in gravidanza che hanno un'alta probabilità di trasmettere il virus ai neonati. La tipizzazione sierologica di un'infezione da HSV avviene mediante la determinazione di anticorpi IgG contro le glicoproteine di superficie G (gG) di HSV 1 (gG1) e HSV 2 (gG2), specifiche del tipo di virus. Questi si formano con un certo ritardo temporale nel corso di un'infezione da HSV, per cui un risultato positivo nel test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG non esclude risultati negativi nel test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG e nel test AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG.

Schema di interpretazione di base dei risultati sierologici

HSV 1/2 Attività IgM	HSV 1/2 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 HSV acuta. Si raccomandano ulteriori indagini per conferma.
negativo	positivo	Indicazione di infezione HSV pregressa / latente.

HSV 1 (gG1) Attività IgG	HSV 2 (gG2) Attività IgG	Valutazione
positivo	negativo	Indicazione di infezione HSV 1 pregressa / latente.
negativo	positivo	Indicazione di infezione HSV 2 pregressa / latente.
positivo	positivo	Indicazione di infezione HSV 1 ed HSV 2 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® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG	0,26 U/ml	1,75 U/ml
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgM	0,54 U/ml	2,15 U/ml
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG	0,37 U/ml	1,98 U/ml
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG	0,40 U/ml	1,94 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® Herpes Simplex Virus IgG e IgM, sono stati analizzati più di 160 sieri di donatori di sangue e persone con sospetta infezione da virus dell'herpes simplex; i risultati sono stati confrontati con quelli degli immunodosaggi IgG e IgM del virus dell'herpes simplex di un importante competitor europeo.

	Sensibilità	Specificità
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgG	96,8%	> 99%
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 IgM	> 99%	> 99%
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) IgG	98,1%	> 99%
AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) IgG	> 99%	97,4%

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® Herpes Simplex Virus IgG e IgM ha mostrato la seguente distribuzione:

AESKULISA®	Numero di campioni	negativo	borderline	positivo
HSV 1/2 IgG	100	14 (14,0 %)	1 (1,0 %)	85 (85,0 %)
HSV 1/2 IgM	100	98 (98,0 %)	2 (2,0 %)	0 (0,0 %)
HSV 1 (gG1) IgG	100	29 (29,0 %)	6 (6,0 %)	65 (65,0 %)
HSV 2 (gG2) IgG	100	86 (86,0 %)	4 (4,0 %)	10 (10,0 %)

10.4 Ripetibilità

Per determinare la precisione e la riproducibilità dei risultati delle analisi con AESKULISA® Herpes Simplex 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® Herpes Simplex Virus 1/2 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	0,196	2,7 U/ml	5,2 %	6,9 %	8,6 %
Siero 2	0,994	22,4 U/ml	4,8 %	5,5 %	5,4 %
Siero 3	1,286	34,5 U/ml	5,5 %	7,4 %	7,0 %
Siero 4	1,576	50,8 U/ml	5,9 %	8,1 %	7,2 %
Siero 5	2,132	101,5 U/ml	6,2 %	6,7 %	7,7 %

AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1/2 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	0,239	5,4 U/ml	4,5 %	8,2 %	13,8 %
Siero 2	0,339	9,2 U/ml	4,0 %	8,0 %	14,0 %
Siero 3	0,441	11,7 U/ml	5,4 %	8,5 %	14,5 %
Siero 4	0,537	16,7 U/ml	4,0 %	5,5 %	15,0 %
Siero 5	0,674	22,3 U/ml	3,8 %	5,1 %	13,0 %

AESKULISA® Herpes Simplex Virus 1 (gG1) 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	0,368	6,8 U/ml	5,9 %	9,2 %	7,8 %
Siero 2	0,870	23,2 U/ml	4,4 %	8,1 %	5,8 %
Siero 3	1,093	32,3 U/ml	2,9 %	6,7 %	7,5 %
Siero 4	1,579	59,0 U/ml	4,5 %	6,2 %	7,0 %
Siero 5	1,897	79,1 U/ml	3,2 %	4,0 %	4,7 %

AESKULISA® Herpes Simplex Virus 2 (gG2) 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	0,490	12,6 U/ml	4,0 %	11,7 %	5,3 %
Siero 2	0,990	31,6 U/ml	4,2 %	9,6 %	10,7 %
Siero 3	1,058	34,6 U/ml	2,9 %	7,3 %	7,8 %
Siero 4	1,215	41,0 U/ml	4,1 %	7,0 %	9,2 %
Siero 5	2,026	89,9 U/ml	3,1 %	6,6 %	7,3 %

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 (NaN₃) 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

Marchi, S., Trombetta, C.M., Gasparini, R., Temperton, N., Montomoli, E. (2017) Epidemiology of herpes simplex virus type 1 and 2 in Italy: a seroprevalence study from 2000 to 2014. *J. Prev. Med. Hyg.* 58, E27 – E33.

Sauerbrei, A. (2014) Diagnostik und antivirale Therapie von Herpes-simplex-Virus-Infektionen. *Mikrobiologie* 24, 150 – 8.

Sauerbrei, A. (2014) Herpes-simplex-Virus-Infektionen. AWMF-Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen.

Simboli sulle etichette / Symbols on labels / Symboles sur étiquettes / Símbolos sobre las etiquetas / Symbole auf den Etiketten / Σύμβολα στις ετικέτες / Símbolos nos rótulos



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



Numero d'ordine, Catalogue number, Référence Catalogue, Numéro de catálogo, Bestellnummer, Αριθμός παραγγελίας, Número de catálogo



Descrizione lotto, Lot, Lot, Lote, Chargen Bezeichnung, Χαρακτηρισμός παρτίδας, Lote



Conformità europea, EC Declaration of Conformity, Déclaration CE de Conformité, Declaración CE de Conformidad, Europäische Konformität, Ευρωπαϊκή συμφωνία, Declaração CE de Conformidade



96 determinazioni, 96 tests, 96 tests, 96 ensayos, 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 instruções de uso



Da utilizzarsi entro, Use by, Utilise avant le, Utilizar antes de, Verwendbar bis, Χρήση μέχρι, Utilizar antes de



Conservare a 2-8°C, Store at 2-8°C (35-46°F), Conserver à 2-8°C, Conservar a 2-8°C, Lagerung bei 2-8°C, Φυλάσσεται στους 2-8°C, Conservar entre 2-8°C



Prodotto da, Manufactured by, Fabriqué par, Fabricado por, Hergestellt von, Κατασκευάζεται από, Fabricado por



Calibratore cut-off, Cut off Calibrator, Etalon Seuil, Calibrador de cut-off, Grenzwert Kalibrator, Οριακός ορός Αντιδραστήριο αθμονόμησης, Calibrador de cut-off



Controllo positivo, Positive Control, Contrôle Positif, Control Positivo, Positiv Kontroll, Θετικός ορός ελέγχου, Controllo positivo



Controllo negativo, Negative Control, Contrôle Négatif, Control Negativo, Negativ Kontrolle, Αρνητικός ορός ελέγχου, Controllo negativo



Calibratore, Calibrator, Etalon, Calibrador, Kalibrator, Αντιδραστήριο βαθμονόμησης, Calibrador



Recupero, Recovery, Corrélation, Recuperado, Wiederfindung, Ανάκτηση, Recuperação



Coniugato, Conjugate, Conjugé, Conjugado, Konjugat, Σύζευγμα, Conjugado,

MP

Micropiastra rivestita, Coated microtiter plate, Microplaque sensibilisée, Microplaca recubierta, Beschichtete Mikrotiterplatte, Επικαλυμμένη μικροπλάκα, Microplaca revestida

WASHB

Tampone di lavaggio, Wash buffer, Tampon de Lavage, Tampón de lavado, Waschruffer, Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης, Solução 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, Solução de paragem

SB

Tampone campione, Sample buffer, Tampon Echantillons, Tampón de muestra, Probenpuffer, Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων, Diluente de amostra