



DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871



Modifiche: -
Soppressioni: §4;

LIAISON® Rubella IgG (REF 310720)

1. FINALITÀ DEL TEST

Il test LIAISON® Rubella IgG impiega la tecnologia della chemiluminescenza (CLIA) in un saggio immunologico per la determinazione quantitativa di anticorpi specifici di classe IgG diretti contro il virus della rosolia in campioni di siero o plasma umano.

Il test deve essere eseguito sulla linea di strumenti LIAISON®.

2. SIGNIFICATO CLINICO

La rosolia è una malattia esantematica infettiva provocata da un virus a RNA a catena singola che appartiene alla famiglia dei *Togavirus*. La malattia ha decorso benigno e raramente presenta complicazioni; in un'ampia percentuale dei casi il decorso è subclinico. La sintomatologia è normalmente modesta, caratterizzata da lieve stato febbrile, malessere diffuso, eruzione cutanea per tre-cinque giorni e talvolta anche corizza e congiuntivite. La rosolia è di solito accompagnata da linfadenopatia. L'infezione conferisce immunità permanente.

L'infezione da rosolia è particolarmente grave se contratta durante i primi quattro mesi di gestazione. Se la donna giunge in età fertile senza una adeguata protezione anticorpale e viene colpita dalla prima infezione durante la gravidanza, esiste un elevato rischio di danno embriofetale. La rosolia congenita causa gravi malformazioni neonatali, molte delle quali sono permanenti e influenzano negativamente lo sviluppo successivo (cataratta, sordità, epatosplenomegalia, ritardo psicomotorio, alterazioni ossee, cardiopatie e lesioni del sistema nervoso). Le conseguenze patologiche per il prodotto del concepimento dipendono dal potere teratogeno del virus e dal momento della gravidanza in cui è stata contratta la malattia. Infatti l'età gestazionale al momento dell'infezione materna è considerata la variabile più importante per la trasmissione intrauterina e per il danno fetale. È comunemente accettato che il rischio diminuisce con il progredire della gravidanza: è massimo nel caso di infezione contratta nei primi due mesi di gestazione (40-60%) e diminuisce progressivamente durante il quarto e quinto mese (10-20%). I dati clinici ottenuti sui neonati e gli studi di isolamento del virus hanno dimostrato che l'infezione fetale è rara dopo il secondo trimestre di gestazione.

Il virus della rosolia è trasmesso *in utero* durante l'infezione primaria materna, sia apparente sia inapparente, quando il virus circolante infetta la placenta e quindi il feto. La trasmissione intrauterina del virus associata alla reinfezione materna è estremamente rara e indica che l'immunità materna (sia naturale, sia dovuta alla vaccinazione) protegge il feto dall'infezione. L'infezione materna (a) può non provocare infezione del feto; oppure può provocare (b) riassorbimento dell'embrione se l'infezione si verifica negli stadi molto precoci della gestazione; (c) aborto spontaneo; (d) morte del neonato al momento del parto; (e) infezione della placenta senza infezione fetale; (f) infezione della placenta e del feto. I neonati colpiti possono presentare lesioni conclamate a diversi organi o, come si osserva di frequente, nessuna lesione chiaramente evidente. Tuttavia, molti di questi bambini apparentemente sani presentano a lungo termine sordità, lesioni al sistema nervoso centrale o altri difetti.

La prima risposta immunitaria di tipo umorale alla infezione consiste nella sintesi delle IgM specifiche anti-virus della rosolia, che raggiungono livelli sierici elevati due settimane dopo l'esantema e persistono in circolo da uno a due mesi. Le IgG specifiche appaiono qualche giorno dopo l'esantema, circa una settimana dopo la comparsa delle IgM. Aumentano rapidamente fino a raggiungere un plateau tra sei e dieci settimane dopo l'inizio della malattia conclamata e subiscono quindi una diminuzione progressiva fino a raggiungere un livello (15-200 IU/mL) che persiste in circolo per tutta la vita. La reinfezione, completamente asintomatica, è accompagnata da un aumento modesto dei livelli di IgG specifiche.

La corretta rilevazione delle IgM e delle IgG anti-virus della rosolia fornisce un dato essenziale per la diagnosi ed il follow-up dell'infezione acuta, per l'accertamento dello stato immunitario della paziente e quindi per la scelta di eventuali misure di profilassi nelle donne fertili recettive. Da quando è disponibile un vaccino, il dosaggio delle IgG anti-virus della rosolia è molto utilizzato per determinare la sierconversione della paziente dopo la vaccinazione.

3. PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il metodo per la determinazione quantitativa di IgG specifiche anti-virus della rosolia è un test indiretto basato sul principio della chemiluminescenza (CLIA). L'antigene della rosolia è usato per rivestire le particelle magnetiche (fase solida) e un anticorpo monoclonale di topo è legato ad un derivato dell'isoluminolo (coniugato anticorpo-isoluminolo). Durante la prima incubazione, gli anticorpi anti-virus della rosolia presenti nei calibratori, nei campioni o nei controlli legano la fase solida. Durante la seconda incubazione, l'anticorpo coniugato reagisce con le IgG anti-virus della rosolia già legate alla fase solida. Dopo ciascuna incubazione, il materiale non legato è rimosso mediante un ciclo di lavaggio.

In seguito, vengono aggiunti i reagenti starter che inducono una reazione di chemiluminescenza. Il segnale luminoso, e quindi la quantità di coniugato anticorpo-isoluminolo, è misurato da un fotomoltiplicatore in unità relative di luce (RLU, relative light units) ed è indicativo della concentrazione di IgG anti-virus della rosolia presente nei calibratori, nei campioni o nei controlli.

4. MATERIALI FORNITI

Integrale di reattivi

Particelle magnetiche (2,3 mL)	[SORB]	Particelle magnetiche rivestite con antigene della rosolia inattivato (ceppo HPV 77), sieroalbumina bovina, tampone fosfato, < 0,1% sodio azide.
Calibratore 1 (2,4 mL)	[CAL1]	Siero/plasma umano contenente bassi livelli di IgG anti-virus della rosolia, sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300 e un colorante giallo inerte. Le concentrazioni dei calibratori (IU/mL) sono tarate contro il Primo Standard Internazionale per immunoglobuline umane anti-virus della rosolia - NIBSC RUBI-1-94 (1997).
Calibratore 2 (2,4 mL)	[CAL2]	Siero/plasma umano contenente alti livelli di IgG anti-virus della rosolia, sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300 e un colorante blu inerte. Le concentrazioni dei calibratori (IU/mL) sono tarate contro il Primo Standard Internazionale per immunoglobuline umane anti-virus della rosolia -NIBSC RUBI-1-94 (1997).
Diluyente dei campioni (2 x 28 mL)	[DILSPE]	Sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300 e un colorante giallo inerte.
Coniugato (28 mL)	[CONJ]	Anticorpi monoclonali di topo anti-IgG umane coniugati con un derivato dell'isoluminolo, sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300, conservanti.
Numero di dosaggi		100

Tutti i reattivi sono forniti pronti per l'uso. L'ordine dei reattivi riflette quello con cui sono assemblati i contenitori nell'integrale di reattivi.

Materiali richiesti, ma non forniti (relativi al sistema)

Strumenti LIAISON® XL Analyzer	Strumenti LIAISON® Analyzer
LIAISON® XL Cuvettes ([REF] X0016). LIAISON® XL Disposable Tips ([REF] X0015). LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200). - LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100). LIAISON® XL Waste Bags ([REF] X0025). -	LIAISON® Module ([REF] 319130). - LIAISON® Starter Kit ([REF] 319102) oppure LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200). LIAISON® Light Check 12 ([REF] 319150). LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100). LIAISON® Waste Bags ([REF] 450003). LIAISON® Cleaning Kit ([REF] 310990).

Altri materiali richiesti

Controlli LIAISON® Rubella IgG (negativo e positivo) (**[REF]** 310721).

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Tutte le unità di siero e plasma utilizzate per la fabbricazione dei componenti di questo kit sono state analizzate e trovate non reattive per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 ed anti-HIV-2. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza che siano assenti agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.

6. REGOLE DI SICUREZZA

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici durante l'esecuzione del dosaggio.

Non pipettare con la bocca.


Evitare il contatto diretto con il materiale potenzialmente infetto, indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso. Lavare accuratamente le mani al termine del dosaggio.

Evitare di provocare schizzi o aerosol. Ogni goccia di reattivo biologico deve essere rimossa con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo ed il mezzo utilizzato deve essere trattato come materiale di rifiuto infetto.

Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici usati per il saggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi; i rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti secondo le linee guida del laboratorio e le disposizioni legislative vigenti in ciascun Paese. Qualsiasi materiale che deve essere riutilizzato deve essere trattato con processo di sterilizzazione adeguato in accordo alle leggi e alle linee guida applicabili localmente. Si raccomanda di verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione.

Non usare kit o componenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i reattivi pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

REATTIVI:	CAL1, CAL2, DILSPE, CONJ
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1 H317
SEGNALAZIONI:	Attenzione
SIMBOLI/PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.
CONSIGLI DI PRUDENZA:	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
CONTIENE: (solo le sostanze prescritte ai sensi dell'articolo 18 del Regolamento CE 1272/2008).	miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H - isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP), **SORB** è etichettato come EUH210, Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

Per ulteriori informazioni consultare le Schede dati di sicurezza disponibili su www.diasorin.com.

7. PREPARAZIONE DELL'INTEGRALE DI REATTIVI

Osservare scrupolosamente le seguenti precauzioni importanti per la manipolazione dei reattivi:

Risospensione delle particelle magnetiche

Le particelle magnetiche devono essere completamente risospese prima di posizionare l'integrale nello strumento. Seguire le fasi indicate di seguito per garantire la sospensione completa delle particelle:

Prima di rimuovere le pellicole sigillanti dai contenitori, ruotare avanti e indietro la rotellina dentata posta al di sotto del contenitore delle particelle magnetiche fino a che il colore della sospensione diventa bruno. Agitare orizzontalmente l'integrale di reattivi con delicatezza ed estrema cura può favorire la sospensione delle particelle magnetiche (evitare la formazione di schiuma). Controllare visivamente il fondo del contenitore delle particelle magnetiche per assicurarsi che tutte le particelle magnetiche sedimentate siano state risospese. Asciugare accuratamente la superficie di ciascun setto per eliminare il liquido residuo.

Se necessario ripetere la procedura fino alla completa risospensione delle particelle magnetiche.

Formazione di schiuma nei reattivi

Per garantire prestazioni ottimali dell'integrale, si raccomanda di evitare la formazione di schiuma nei reattivi. Osservare le raccomandazioni seguenti per evitarla:

Prima di usare l'integrale, controllare visivamente i reattivi, in particolare i calibratori (posti in seconda e terza posizione dell'integrale, dopo il contenitore delle particelle magnetiche) per escludere la presenza di schiuma. Se si osserva la presenza di schiuma dopo la risospensione delle particelle magnetiche, posizionare l'integrale nello strumento e lasciare sciogliere la schiuma. L'integrale è pronto per l'uso quando è lasciato riposare nello strumento, le particelle magnetiche sono tenute in agitazione automatica e la schiuma è sciolta.

Caricare l'integrale nell'area reagenti dello strumento

Strumenti LIAISON® Analyzer

- Posizionare l'integrale di reattivi nell'area reagenti dello strumento con l'etichetta dei codici a barre posta a sinistra e lasciar agitare per 30 minuti prima dell'uso. In questo periodo le particelle magnetiche vengono tenute automaticamente in agitazione per assicurare una risospensione completa.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

Strumenti LIAISON® XL Analyzer

- Lo strumento LIAISON® XL Analyzer è fornito di un dispositivo magnetico interno che favorisce la dispersione delle microparticelle prima di posizionare un integrale di reattivi nell'area reagenti dello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per i dettagli tecnici.
 - a. Posizionare l'integrale di reattivi nella scanalatura apposita.
 - b. Lasciare riposare l'integrale di reattivi nel dispositivo magnetico per almeno 30 secondi (fino a diversi minuti). Ripetere l'operazione se necessario.
- Posizionare quindi l'integrale di reattivi nell'area reagenti dello strumento con l'etichetta posta a sinistra e lasciar agitare per 15 minuti prima dell'uso. In questo periodo le particelle magnetiche vengono tenute automaticamente in agitazione per assicurare una risospensione completa.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DELL'INTEGRALE DI REATTIVI

Al momento dell'arrivo, l'integrale di reattivi deve essere mantenuto in posizione verticale per facilitare la risospensione delle particelle magnetiche. Se l'integrale è conservato sigillato e mantenuto in posizione verticale, i reattivi sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza. Non congelare. L'integrale di reattivi non deve essere usato oltre la data di scadenza riportata sulle etichette del kit e dell'integrale. Dopo l'eliminazione delle pellicole sigillanti, l'integrale di reattivi è stabile per otto settimane se conservato refrigerato a 2-8°C oppure nell'area reagenti dello strumento.

9. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il dosaggio può essere effettuato in campioni di siero o plasma umano. Possono essere utilizzati anticoagulanti come EDTA e eparina. L'uso di sodio citrato causa una sottostima dei risultati positivi. Prelevare il sangue per puntura venosa, lasciarlo coagulare e separare il siero dal coagulo al più presto. Chiarificare per filtrazione o centrifugazione prima del test i campioni che presentano materiale in sospensione, opalescenza, lipemia o residui eritrocitari. Non usare campioni fortemente emolizzati o lipemici, né campioni che presentano materiale in sospensione o evidente contaminazione microbica. Eliminare le bolle di aria eventualmente presenti prima del dosaggio. Se il dosaggio è eseguito nei sette giorni successivi al prelievo, i campioni possono essere conservati a 2-8°C. In caso contrario, devono essere suddivisi in aliquote congelate a -20°C o a temperature inferiori. Se i campioni sono stati scongelati, agitare con cura prima di dosarli. Otto campioni di diversa reattività sono stati conservati per sette giorni a 2-8°C e sono stati sottoposti a tre cicli di congelamento e scongelamento. I risultati non hanno mostrato differenze significative. Il volume minimo di campione necessario è 170 µL (20 µL di campione + 150 µL di volume morto).

10. TARATURA

Il dosaggio dei calibratori specifici contenuti nell'integrale di reattivi permette di regolare la curva predefinita memorizzata dal fabbricante sulle unità relative di luce (RLU = relative light units) rilevate. Ogni soluzione dei calibratori permette di eseguire quattro tarature.

La ritaratura deve essere eseguita in triplicato ogniqualvolta si verifica almeno una delle condizioni seguenti:

- Viene usato un nuovo lotto di integrale di reattivi o un nuovo lotto di reagenti starter.
- La taratura precedente è stata eseguita più di quattro settimane prima.
- Lo strumento ha subito un intervento di assistenza tecnica.
- I valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi.

Strumenti LIAISON® Analyzer: I valori dei calibratori sono codificati nei codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale.

Strumenti LIAISON® XL Analyzer: I valori dei calibratori sono codificati nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency IDentification transponder, RFID Tag).

11. PROCEDIMENTO OPERATIVO

Solo per LIAISON® XL Analyzer: questo test richiede i seguenti file del dosaggio: Rube-G, RUBG10 e RUBG5.

Per dosare i campioni usare RUBG10 o RUBG5.

Mai usare Rube-G.

Per ottenere prestazioni analitiche ideali è necessario attenersi scrupolosamente al manuale operativo dello strumento.

Strumenti LIAISON® Analyzer. Tutti i parametri del test vengono descritti attraverso i codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale di reattivi. Nel caso lo strumento non possa leggere il codice a barre, l'integrale non potrà essere utilizzato. Non gettare l'integrale; contattare il supporto tecnico DiaSorin locale per istruzioni.

Strumenti LIAISON® XL Analyzer. Tutti i parametri del test vengono descritti dalle informazioni codificate nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency IDentification transponder, RFID Tag) nell'integrale di reattivi. Nel caso lo strumento non possa leggere il RFID Tag, l'integrale non potrà essere utilizzato. Non gettare l'integrale; contattare il supporto tecnico DiaSorin locale per istruzioni.

Lo strumento esegue le seguenti operazioni:

1. Distribuire calibratori, controlli o campioni nel modulo di reazione.
2. Distribuire il diluente dei campioni.
3. Distribuire le particelle magnetiche rivestite.
4. Incubare.
5. Lavare con il liquido di lavaggio.
6. Distribuire il coniugato nel modulo di reazione.
7. Incubare.
8. Lavare con il liquido di lavaggio.
9. Aggiungere i reagenti starter e misurare la luce emessa.

12. CONTROLLO DI QUALITÀ

I controlli LIAISON® devono essere analizzati in singolo per valutare le prestazioni del test. Il controllo di qualità deve essere eseguito analizzando i controlli LIAISON® Rubella IgG

- (a) almeno una volta per ogni giorno di lavoro,
- (b) quando si usa un nuovo integrale di reattivi,
- (c) quando si tara il kit,
- (d) quando si usa un nuovo lotto di reagenti starter,
- (e) quando si determina l'adeguatezza delle prestazioni dell'integrale di reattivi aperto da più di otto settimane, o secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

I valori dei controlli devono essere compresi nei limiti attesi: ogniqualvolta uno o entrambi i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, la taratura (calibrazione) deve essere rieseguita e i controlli devono essere rianalizzati. Se i valori sperimentali dei controlli sono di nuovo al di fuori degli intervalli predefiniti dopo la taratura, il test deve essere ripetuto usando un flacone di controllo non aperto. Se i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, i risultati dei campioni non devono essere refertati.

Le prestazioni di altri controlli devono essere valutate per assicurarne la compatibilità con questo test prima dell'uso. È indispensabile pertanto stabilire gli intervalli dei valori dei materiali usati per il controllo di qualità.

13. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento calcola automaticamente le concentrazioni di IgG anti-virus della rosolia espresse in IU/mL e classifica i risultati. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

Calibratori e controlli possono fornire dati diversi espressi in valori di RLU o di concentrazione, ma i risultati clinici sono equivalenti.

Intervallo di dosaggio. 3-350 IU/mL di IgG anti-virus della rosolia.

I campioni contenenti concentrazioni di anticorpo maggiori dell'intervallo di dosaggio possono essere prediluiti mediante la funzione Dilute dello strumento e ridosati (il fattore di diluizione consigliato è 1:10). I risultati saranno quindi moltiplicati automaticamente per il fattore di diluizione per ottenere i livelli anticorpali dei campioni non diluiti. Il diluente dei campioni disponibile in eccesso nell'integrale di reattivi permette la prediluizione di 40 campioni.

I campioni devono essere interpretati come segue:

I campioni con concentrazioni di IgG anti-virus della rosolia al di sotto di 10 IU/mL sono da classificare *negativi*.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-virus della rosolia uguali o al di sopra di 10 IU/mL sono da classificare *positivi*.

I campioni con livelli di IgG anti-rosolia compresi tra +/- 10% del valore soglia devono essere ritestati in duplicato, al fine di confermare il risultato iniziale. I campioni ripetutamente positivi (almeno 2 risultati su 3) vanno considerati positivi.

I campioni ripetutamente negativi (almeno 2 risultati su 3) vanno considerati negativi.

Il file del dosaggio per lo strumento LIAISON® XL per la determinazione delle IgG anti-rosolia con la suddetta interpretazione dei risultati è **RUBG10**.

Fare riferimento alla sezione 15.6 per dettagli sui risultati osservati durante la valutazione delle prestazioni.

Un risultato negativo indica che non si è acquisita immunità, ma non esclude un'infezione acuta. Occorre ricordare che i livelli di IgG sono di solito negativi durante il periodo di incubazione e la fase acuta della malattia. Se si sospetta che la paziente sia stata esposta al virus della rosolia anche se il dosaggio delle IgG è negativo, bisogna raccogliere e dosare un secondo campione almeno una o due settimane più tardi. La sieroconversione da un campione negativo a un campione positivo indica infezione recente, o risposta alla vaccinazione, o somministrazione di immunoglobuline.

Un risultato positivo generalmente indica l'esposizione all'agente patogeno, sia mediante vaccinazione che precedente infezione.

I laboratori possono anche adottare un valore soglia più basso per aumentare la sensibilità diagnostica del kit LIAISON® Rubella IgG permettendo il rilevamento precoce di anticorpi durante la fase iniziale dell'infezione acuta.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-virus della rosolia al di sotto di 5 IU/mL sono da classificare *negativi*.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-virus della rosolia uguali o al di sopra di 10 IU/mL sono da classificare *positivi*.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-virus della rosolia compresi tra 5 e 10 IU/mL sono da classificare *dubbi*.

Un risultato dubbio può indicare un basso livello di anticorpi IgG anti-virus della rosolia nel campione, e deve essere interpretato con cautela. Un risultato inferiore a 10 IU/mL può essere ottenuto da pazienti con infezione recente o vaccinazione. Pertanto, campioni successivi devono essere raccolti e testati almeno una o due settimane più tardi al fine di stabilire se i livelli di anticorpi sono in calo o in aumento. I dati sierologici di altri marcatori del virus della rosolia o derivanti dall'utilizzo di metodi alternativi, possono fornire informazioni utili per l'interpretazione clinica dei risultati.

Il file del dosaggio per lo strumento LIAISON® XL per la determinazione delle IgG anti-rosolia con la suddetta interpretazione dei risultati è **RUBG5**.

Per lo strumento LIAISON® si prega di contattare i rappresentanti locali DiaSorin per adottare l'opzione a 5-10 IU/mL.

14. LIMITI DEL DOSAGGIO

Per ottenere risultati affidabili è necessario attenersi strettamente alle istruzioni per l'uso e possedere una adeguata manualità tecnica.

Contaminazione batterica dei campioni o inattivazione con il calore possono influenzare i risultati del saggio.

Gli integrali non devono essere usati con entrambi i tipi di strumenti (LIAISON® e LIAISON® XL). Quando un integrale è stato utilizzato con un tipo di strumento, bisogna continuare a usarlo con quello strumento fino a quando è stato esaurito. Questioni di tracciabilità che derivano da questa dichiarazione richiedono di concludere il follow-up dei pazienti con lo stesso tipo di strumento (LIAISON® o LIAISON® XL), senza effettuare scambi o spostamenti.

I risultati del test sono riportati in maniera quantitativa come positivi, equivoci o negativi per la presenza di IgG anti-virus della rosolia. Tuttavia, la diagnosi di una malattia infettiva non deve essere formulata sulla base del risultato di un singolo dosaggio, ma questo deve essere valutato insieme ad altri riscontri clinici, procedure diagnostiche e al giudizio del medico.

Il livello di protezione nei pazienti con basso titolo di IgG anti-virus della rosolia (<15 IU/mL) deve essere stabilito dal giudizio del medico.

15. PRESTAZIONI METODOLOGICHE DEL KIT

15.1. Specificità analitica

La specificità analitica è definita come la capacità del test di rilevare esattamente l'analita in presenza di fattori potenzialmente interferenti nella matrice del campione (per esempio, anticoagulanti, emolisi, effetti di trattamenti del campione) o di reazioni crociate con anticorpi potenzialmente interferenti.

Interferenze. Studi controllati su fattori potenzialmente interferenti hanno dimostrato che le prestazioni del test non sono influenzate da anticoagulanti (EDTA, eparina), emolisi (fino a 1000 mg/dL di emoglobina), lipemia (fino a 3000 mg/dL di trigliceridi), bilirubinemia (fino a 20 mg/dL di bilirubina) o da cicli di congelamento e scongelamento dei campioni.

Reazioni crociate. Di regola, la presenza di anticorpi potenzialmente interferenti non interferisce nel dosaggio. Gli anticorpi studiati sono stati: (a) immunoglobuline dirette contro vari agenti etiologici – come hCMV, HSV, hHV 6, EBV, VZV, parvovirus B19 – (b) anticorpi anti-nucleari (ANA) e fattore reumatoide (immunoglobuline anti-Fc).

15.2. Precisione con gli strumenti LIAISON® Analyzer

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. La variabilità osservata non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni.

Ripetibilità	A	B	C	D
Numero di determinazioni	20	20	20	20
Media (IU/mL)	21,6	28,7	62,8	143,6
Deviazione standard	1,30	1,55	4,71	20,25
Coefficiente di variazione (%)	6,0	5,4	7,5	14,1

Riproducibilità	A	B	C	D
Numero di determinazioni	20	20	20	20
Media (IU/mL)	21,3	27,6	57,8	133,6
Deviazione standard	1,38	1,77	6,65	13,49
Coefficiente di variazione (%)	6,5	6,4	11,5	10,1

15.3. Precisione con gli strumenti LIAISON® XL Analyzer

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. La variabilità osservata non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità sono stati dosati venti replicati nella stessa sessione analitica.

Ripetibilità	1	2	3	4	5	6	7	Contr. negativo	Contr. positivo
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (IU/mL)	16,2	17,8	29,0	63,4	97,2	112	134	<5,00	43,5
Deviazione standard	0,90	0,78	1,42	4,71	6,25	9,80	18,25	n.a.	1,91
Coefficiente di variazione (%)	5,6	4,4	4,9	7,4	6,4	8,8	13,6	n.a.	4,4
Valore minimo (IU/mL)	15,1	16,1	27,0	58,0	85,5	94,7	106	<5,00	41,3
Valore massimo (IU/mL)	18,3	19,2	31,6	74,2	106	133	160	<5,00	48,1

Riproducibilità. Per valutare la riproducibilità sono stati dosati venti replicati in giorni diversi (una o due sessioni analitiche al giorno).

Riproducibilità	8	1	3	4	5	9	7	Contr. negativo	Contr. positivo
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (IU/mL)	18,0	17,8	30,3	64,9	102	127	141	<5,00	48,9
Deviazione standard	0,94	0,67	1,76	4,36	8,77	7,44	8,99	n.a.	3,13
Coefficiente di variazione (%)	5,2	3,8	5,8	6,7	8,6	5,9	6,4	n.a.	6,4
Valore minimo (IU/mL)	16,4	16,2	27,7	56,2	90,1	115	124	<5,00	44,4
Valore massimo (IU/mL)	19,8	18,8	33,3	77,5	120	146	153	<5,00	54,0

15.4. Esattezza

L'esattezza del dosaggio è stata controllata mediante il test di diluizione.

Test di diluizione. Sono state dosate diluizioni scalari di quattro sieri a concentrazione elevata di IgG anti-virus della rosolia effettuate con il diluente dei campioni. Le concentrazioni misurate di IgG anti-virus della rosolia ottenute in funzione delle concentrazioni attese sono state analizzate con la regressione lineare. I coefficienti di correlazione (r) erano tutti 0,999.

Diluizione	Concentrazione attesa, IU/mL	Concentrazione misurata, IU/mL	% Recupero	Diluizione	Concentrazione attesa, IU/mL	Concentrazione misurata, IU/mL	% Recupero
in toto	–	133,1	–	in toto	–	159,6	–
1:2	66,6	60,8	91,4	1:2	79,8	82,5	103,4
1:4	33,3	31,1	93,5	1:4	39,9	41,9	105,0
1:8	16,6	15,3	92,0	1:8	20,0	19,8	99,2
1:16	8,3	7,4	89,0	1:16	10,0	10,1	101,3
1:32	4,2	3,1	74,5	1:32	5,0	4,9	98,2
in toto	–	246,0	–	in toto	–	249,7	–
1:2	123,0	121,6	98,9	1:2	124,9	124,4	99,6
1:4	61,5	60,9	99,0	1:4	62,4	61,7	98,8
1:8	30,8	29,1	94,6	1:8	31,2	31,3	100,3
1:16	15,4	13,6	88,5	1:16	15,6	15,5	99,3
1:32	7,7	6,9	89,8	1:32	7,8	7,6	97,4

15.5. Effetto saturazione ad alte dosi

Quando si dosano campioni contenenti concentrazioni anticorpali estremamente elevate, è possibile ottenere dei livelli apparenti di anticorpo inferiori al reale per effetto della saturazione. Un metodo ben ottimizzato a due incubazioni esclude però che si ottengano risultati grossolanamente sottostimati, perché il segnale analitico resta sempre elevato (curva a saturazione).

La presenza di un effetto saturazione è stata valutata analizzando quattro campioni positivi per IgG anti-virus della rosolia ad alto titolo. Tutti i campioni hanno presentato valori di concentrazione al di sopra dell'intervallo di dosaggio, come ci si aspetta da campioni ad alto titolo, indicando che la classificazione dei campioni resta corretta.

15.6. Specificità e sensibilità diagnostiche

La specificità e la sensibilità diagnostiche sono state valutate dosando 632 campioni selezionati da diverse popolazioni (soggetti mai infettati da virus della rosolia, soggetti affetti da malattie autoimmuni, pazienti affetti da altre malattie infettive a sintomatologia simile, soggetti con pregressa infezione da virus della rosolia o vaccinati, pazienti affetti da infezione acuta o reinfezione da virus della rosolia, soggetti con persistenza delle IgM anti-virus della rosolia). I campioni sono stati esaminati con diversi metodi di confronto e si sono impiegati la regola del consenso generale e i dati clinici e sierologici per stabilire i risultati attesi. Dieci campioni sono stati classificati dubbi sia con il metodo in esame sia con i metodi di riferimento e pertanto sono stati esclusi dall'analisi dei risultati.

Nella popolazione presumibilmente negativa studiata 2 campioni sono risultati equivoci e 120 sono risultati negativi - specificità diagnostica: 98,4% (intervallo di confidenza 95%: 94,2-99,8%) - quando è stata applicata la zona equivoca tra 5 e 10. Nessun positivo e 122 campioni negativi sono stati osservati nella stessa popolazione - specificità diagnostica: 100% (intervallo di confidenza 95%: 97,0-100%) applicando il valore soglia uguale a 10 IU/mL.

Nella popolazione presumibilmente positiva studiata nessun campione è risultato negativo e 500 campioni sono risultati positivi - sensibilità diagnostica: 100% (intervallo di confidenza 95%: 99,3-100%) - utilizzando entrambe le interpretazioni dei risultati.

Un altro studio è stato condotto analizzando 115 campioni selezionati non reattivi con un livello molto basso di IgG anti-virus della rosolia. 26 campioni sono risultati equivoci (con valori compresi tra 5 e 10 IU/mL) utilizzando il kit LIAISON® Rubella IgG. Tra questi 26 campioni, 2 negativi, 15 equivoci e 9 positivi sono stati osservati con un metodo di riferimento che utilizza una zona equivoca da 5 a 10 IU/mL. L'uso dell'opzione con zona equivoca tra 5 e 10 IU/mL può contribuire a migliorare la concordanza diagnostica tra metodi quando i livelli di IgG anti-virus della rosolia sono molto bassi.

LIAISON® Control Rubella IgG (REF 310721)

1. FINALITÀ DEL TEST

I controlli LIAISON® Rubella IgG (negativo e positivo) devono essere impiegati nei saggi immunologici di chemiluminescenza (CLIA) LIAISON® come mezzo per controllare l'affidabilità delle sessioni di dosaggio. Le prestazioni metodologiche dei controlli LIAISON® Rubella IgG non sono definite con altri dosaggi o strumenti automatici diversi da LIAISON® e LIAISON® XL.

Strumenti LIAISON® Analyzer. Il certificato di analisi fornisce informazioni specifiche sul lotto di controlli che devono essere inserite manualmente nel software dello strumento prima di caricare i flaconi dei controlli nello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per i dettagli tecnici.

Strumenti LIAISON® XL Analyzer. I codici a barre riportati nel certificato di analisi forniscono informazioni specifiche sul lotto di controlli e devono essere letti dal lettore manuale di codici a barre dello strumento LIAISON® XL Analyzer prima di caricare i flaconi dei controlli nello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per i dettagli tecnici.

2. MATERIALI FORNITI

Controllo negativo (2 x 0,7 mL)	CONTROL-	Siero/plasma umano stabilizzato in tampone PBS, non reattivo per IgG anti-virus della rosolia, sieralbumina bovina, 0,2% ProClin® 300.
Controllo positivo (2 x 0,7 mL)	CONTROL+	Siero/plasma umano reattivo per IgG anti-virus della rosolia, stabilizzato in tampone PBS, sieralbumina bovina, 0,2% ProClin® 300 e un colorante giallo inerte.

Tutti i reattivi sono forniti pronti per l'uso. L'intervallo delle concentrazioni di ogni controllo è stampato sul certificato di analisi e indica i limiti stabiliti da DiaSorin per i valori dei controlli ottenuti con dosaggi affidabili. Ogni laboratorio è responsabile di adottare limiti diversi per soddisfare esigenze specifiche.

3. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- I controlli non sono specifici per lotto di kit. Si possono scambiare con lotti diversi di integrale di reattivi.
- Tutti i materiali utilizzati per la fabbricazione dei componenti di questo kit sono stati analizzati e trovati non reattivi per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 ed anti-HIV-2. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza che siano assenti agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.
- Osservare le precauzioni necessarie per la manipolazione dei reattivi di laboratorio.
- I rifiuti devono essere smaltiti in accordo con la regolamentazione locale.

4. REGOLE DI SICUREZZA

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici durante l'esecuzione del dosaggio.

Non pipettare con la bocca.


Evitare il contatto diretto con il materiale potenzialmente infetto, indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso. Lavare accuratamente le mani al termine del dosaggio.

Evitare di provocare schizzi o aerosol. Ogni goccia di reattivo biologico deve essere rimossa con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo ed il mezzo utilizzato deve essere trattato come materiale di rifiuto infetto.

Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici usati per il saggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi; i rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti secondo le linee guida del laboratorio e le disposizioni legislative vigenti in ciascun Paese. Qualsiasi materiale che deve essere riutilizzato deve essere trattato con processo di sterilizzazione adeguato in accordo alle leggi e alle linee guida applicabili localmente. Si raccomanda di verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione.

Non usare kit o componenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i reattivi pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

REATTIVI:	[CONTROL-], [CONTROL+]
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1 H317
SEGNALAZIONI:	Attenzione
SIMBOLI/PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.
CONSIGLI DI PRUDENZA:	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
CONTIENE: (solo le sostanze prescritte ai sensi dell'articolo 18 del Regolamento CE 1272/2008).	miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H - isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1). (ProClin® 300).

Per ulteriori informazioni consultare le Schede dati di sicurezza disponibili su www.diasorin.com.

5. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Al momento dell'arrivo, i controlli devono essere conservati a 2-8°C e mantenuti in posizione verticale per evitare il contatto della soluzione con il tappo del flacone. Non congelare. Se i controlli sono conservati sigillati in posizione verticale, essi sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura, i controlli sono stabili per otto settimane se conservati refrigerati a 2-8°C tra due usi successivi. Evitare la contaminazione batterica dei controlli. Non usare i controlli oltre la data di scadenza indicata sulle etichette dei flaconi.

6. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- Mettere i flaconi dei controlli nel supporto C sullo strumento. Ogni soluzione di controllo permette di eseguire almeno 20 test.
- Il volume minimo di controllo necessario è 420 µL (20 µL di controllo + 400 µL di volume morto).
- Al momento dell'uso, equilibrare i controlli a temperatura ambiente (20-25°C) prima di aprire i flaconi e lasciarli nell'area campioni dello strumento solo durante il tempo necessario ad eseguire il test di controllo di qualità.
- Dopo l'uso, tappare i flaconi al più presto e conservarli a 2-8°C in posizione verticale.
- Durante la manipolazione dei controlli, adottare le precauzioni necessarie per evitare la contaminazione microbica.

7. MANIPOLAZIONE

Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per la manipolazione adeguata.

8. VALORI ATTESI

I valori obiettivo e gli intervalli delle concentrazioni di IgG anti-virus della rosolia dei controlli sono riportati sul certificato di analisi. Questi sono stati stabiliti considerando la variabilità delle sessioni analitiche rispetto alla curva predefinita memorizzata dal fabbricante, allo scopo di garantire l'accuratezza dei risultati analitici e di ottenere indicazioni sulla stabilità e il deterioramento dei reattivi. Se i valori sperimentali dei controlli sono ripetutamente al di fuori degli intervalli predefiniti, il test molto probabilmente non è stato eseguito in modo corretto.

REFERENCES

M.A. CHERNESKY, J.B. MAHONY

Rubella virus.

In: Manual of Clinical Microbiology, P.R. Murray et al. eds., ASM Press, Seventh edition, p. 964-969 (1999).

L.Z. COOPER, S.R. PREBLUD, C.A. ALFORD

Rubella.

In: Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant, J.S. Remington, J.O. Klein eds., W.B. Saunders Co. Publ., Fourth edition, p. 268-299 (1995).

A.A. GERSHON

Rubella virus (German measles).

In: Principles and Practice of Infectious Diseases, G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin, eds., Churchill Livingstone Publ., Fifth edition, p. 1708-1714 (2000).

W. HUBL

Evaluation of the LIAISON® thyroid chemiluminescence immunoassays.

Clin. Lab., **46** : 181-189 (2000).

R. MOLINA et al.

External evaluation of LIAISON® tumour marker assays on the fully automated chemiluminescent LIAISON® immunoassay analyser.

Clin. Lab., **46** : 169-179 (2000).

200/007-830, 05 - 2016-05