

**VIROTECH Rubella Liquor/CSF IgG ELISA  
(Rubella Liquor/CSF IgG ELISA)**

**N° articolo: EC109L00**

**Rubella IgG Liquor/CSF Standards**

**N° articolo: EC109L60**

**Rubella IgG Liquor/CSF AI Ctrl-Set**

**N° articolo: EN109L65**

**Codice colore: rosso metallizzato / trasparente**

**SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

**Virotech Diagnostics GmbH  
Waldstrasse 23 A2  
63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0  
Fax.: +49(0)6074-23698-900  
[www.goldstandarddiagnostics.com](http://www.goldstandarddiagnostics.com)**



# Indice

<b>1. Finalità d'uso .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Principio del test .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Contenuto della confezione .....</b>	<b>3</b>
<b>4. Modalità di conservazione e stabilità del kit e dei reattivi pronti per l'uso .....</b>	<b>3</b>
<b>5. Precauzioni e avvertenze .....</b>	<b>4</b>
<b>6. Altro materiale occorrente (non fornito).....</b>	<b>4</b>
<b>7. Esecuzione del test CSF-DIAGNOSTIC.....</b>	<b>4</b>
7.1 Materiale di analisi .....	4
7.2 Preparazione dei reattivi .....	5
7.3 Esecuzione del test VIROTECH ELISA CSF-DIAGNOSTIC .....	5
7.4 Impiego di strumenti ELISA.....	5
<b>8. Valutazione del test CSF-DIAGNOSTIC .....</b>	<b>6</b>
8.1 Controlli funzionali dei test .....	6
8.2 Valutazione .....	6
8.3 Calcolo dell'indice degli anticorpi AI (con esempio) .....	6
8.4 Interpretazione.....	7
8.5 Limiti del test.....	8
<b>9. Dati sulle Prestazioni CSF-Diagnostic .....</b>	<b>8</b>
9.1 Sensibilità e specificità .....	8
9.2 Coefficiente di variazione intradossaggio (ripetibilità) .....	9
9.3 Coefficiente di variazione interdossaggio (riproducibilità) .....	9
<b>10. Bibliografi .....</b>	<b>9</b>
<b>11. Schema di svolgimento del test .....</b>	<b>10</b>

## 1. Finalità d'uso

---

Il test VIROTECH Rubella Liquor/CSF IgG ELISA è utilizzato per il rilevamento quantitativo della sintesi endogena di anticorpi IgG nel SNC e può essere utilizzato solo per la diagnosi del liquor.

## 2. Principio del test

---

L'anticorpo ricercato nel siero umano e nel liquor forma un complesso immunitario con l'antigene fissato sulla micropiastra. Le immunoglobuline non legate sono rimosse mediante processi di lavaggio. Il coniugato enzimatico si lega a questo complesso. Il coniugato non legato è rimosso anch'esso a sua volta mediante processi di lavaggio. Dopo l'aggiunta della soluzione di substrato (TMB), l'attività enzimatica (perossidasi) causa la comparsa di una colorazione blu, che vira al giallo dopo l'aggiunta della soluzione bloccante.

L'estinzione (DO) della soluzione colorata è in rapporto direttamente proporzionale con la concentrazione serica o del liquor dell'anticorpo IgG analizzato, specifico dell'agente patogeno. Per l'individuazione di anticorpi propri del sistema nervoso centrale (SNC) è necessario quantificare le concentrazioni di anticorpi misurate inizialmente. A tal fine si utilizzano le serie di sieri standard con concentrazione graduale di anticorpi specifici dell'agente patogeno, da cui è possibile ricavare, manualmente o con l'ausilio di un opportuno programma, una curva che consente la conversione dei valori DO rilevati in unità di misura adimensionali fissate in modo arbitrario (wME). Compensando le unità di misura calcolate (wME) con le concentrazioni totali di IgG nel siero o nel liquor misurate con il metodo nefelometrico, si determina il cosiddetto indice degli anticorpi (AI) (vedere calcolo dell'AI al paragrafo 11.3). Tale indice fornisce il quoziente ricercato degli anticorpi specifico dell'agente patogeno come multiplo o come frazione del relativo quoziente di immunoglobuline totali. Il valore risulta quindi indipendente dalle condizioni della funzione individuale di barriera cerebrale. L'indice degli anticorpi consente di dedurre la presenza e l'entità di una sintesi di anticorpi specifici dell'agente patogeno propria del sistema nervoso centrale. Tale metodo non si applica in caso di sintesi intratecale polispecifica delle immunoglobuline, poiché il quoziente totale delle IgX non è più adatto come parametro di barriera e deve essere sostituito dal cosiddetto valore di Limes (v. calcolo quoziente di Limes 9.3.3).

## 3. Contenuto della confezione

---

### Contenuto della confezione (kit per il test del liquor IgG)

1. **1 Micropiastra**, composta da 96 pozzetti singoli in strip frazionabili, rivestiti con antigene, liofilizzato
2. **Soluzione salina tamponata PBS per diluizione (blu, pronta per l'uso), 2x50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
3. **Soluzione PBS per lavaggio (concentrata 20 volte), 50ml**, pH 7,2, con conservante e Tween 20
4. **Coniugato IgG (anti-umano), 11ml**, coniugato con perossidasi di rafano (capra o pecora) con stabilizzante proteico e conservante in tampone Tris, pronto per l'uso
5. **Rubella IgG Liquor/CSF Standards** per la quantificazione delle concentrazioni di anticorpi specifici dell'agente patogeno, 4 fiale à 1000µl, siero umano con stabilizzatore proteico e conservante, pronto all'uso, 100wME; 25wME; 6,2wME; 1,5wME (wME = unità di misura arbitraria)
6. **soluzione per substrato di tetrametilbenzidina (3,3',5,5'TMB), 11ml**, pronta per l'uso
7. **soluzione bloccante al citrato, 6ml**, contiene una miscela di acidi

## 4. Modalità di conservazione e stabilità del kit e dei reattivi pronti per l'uso

---

Conservare il kit a 2-8°C. La scadenza dei singoli componenti è riportata sulle rispettive etichette; per la stabilità del kit vedere il certificato del controllo qualità.

1. Dopo aver staccato i pozzetti individuali occorrenti, conservare le rimanenti strisce di pozzetti in sacchetto chiuso con essiccante a 2-8°C. Subito dopo l'uso, riporre i reattivi in ambiente a 2-8°C.
2. Il coniugato pronto per l'uso e la soluzione per substrato TMB sono sensibili alla luce e devono essere conservati al riparo dalla luce. Se per l'azione della luce si sviluppa nella soluzione per substrato un'alterazione del colore, la soluzione deve essere eliminata.
3. Prelevare soltanto la quantità di coniugato o di TMB necessaria per il test da eseguire. L'eventuale quantità di coniugato o TMB in eccesso non può essere rimessa nel recipiente originale, ma deve essere eliminata.

<b>Materiale</b>	<b>Stato</b>	<b>Conservazione</b>	<b>Stabilità</b>
Campioni da analizzare	diluiti	da +2 a +8°C	max. 6 ore
	non diluiti	da +2 a +8°C	1 settimana
Controlli	dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
Micropiastro	dopo l'apertura	da +2 a +8° (conservazione nella busta in dotazione con sacchetto di essiccante)	3 mesi
RF-SorboTech	non diluiti, dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
	diluito	da +2 a +8°C	1 settimana
Coniugato	dopo l'apertura	da +2 a +8°C (protetto dalla luce)	3 mesi
Tetrametilbenzidina	dopo l'apertura	da +2 a +8°C (protetto dalla luce)	3 mesi
Soluzione bloccante	dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
Soluzione per lavaggio	dopo l'apertura	da +2 a +8°C	3 mesi
	diluizione finale (pronta per l'uso)	da +2 a +25°C	4 settimane

## 5. Precauzioni e avvertenze

Sono impiegati come controlli esclusivamente sieri testati e riscontrati negativi per gli anticorpi anti HIV1, HIV2, HCV e verso l'antigene di superficie dell'epatite B. Tuttavia tutti i campioni, i campioni diluiti, gli controlli, i coniugati e le strisce per microtitolazione devono essere sempre considerati materiali potenzialmente infetti. Si prega di manipolarli con le precauzioni del caso. Applicare le direttive valide per il laboratorio.

I componenti che contengono conservanti, come pure la soluzione bloccante al citrato e il TMB, sono irritanti per la pelle, gli occhi e le mucose. In caso di contatto con questi materiali, lavare immediatamente la parte interessata sotto acqua corrente e consultare eventualmente un medico.

Per lo smaltimento dei materiali utilizzati, attenersi alle direttive locali vigenti.

## 6. Altro materiale occorrente (non fornito)

1. Per il controllo interno della qualità, offriamo un set di controllo AI. (Rubella IgG Liquor/CSF AI Ctrl-Set; VT: Art. No.: EN109L65)
2. Acqua distillata/demineralizzata
3. Pipetta a 8 canali 50µl, 100µl
4. Micropipette: 10µl, 100µl, 1000µl
5. Provette per i campioni
6. Salviette di carta o carta assorbente
7. Pellicola protettiva per piastre ELISA
8. Contenitore per rifiuti infetti
9. Lavatore a mano ELISA o lavatore automatico per micropiastre
10. Spettrofotometro per micropiastre con filtro 450/620nm (Lunghezza d'onda di riferimento 620-690nm)
11. Incubatore

## 7. Esecuzione del test CSF-DIAGNOSTIC

### 7.1 Materiale di analisi

Come materiale di analisi è possibile utilizzare sia siero che plasma (in questo caso il tipo di anticoagulanti non ha alcuna rilevanza), anche se nel presente foglietto illustrativo è menzionato soltanto il siero.

#### **Prendere in considerazione le seguenti indicazioni per i campioni di CSF**

1. La puntura venosa e lombare devono essere sempre eseguite approssimativamente nello stesso momento.
2. Si può utilizzare solo il liquor otticamente chiaro, non separato e non inattivato.
3. Non utilizzare CSF emolitico o microbiologicamente contaminato o torbido.
4. L'uso di CSF surgelato è possibile se, dopo lo scongelamento, sono soddisfatte le condizioni di cui ai punti 2 e 3.

## 7.2 Preparazione dei reattivi

La VIROTECH Diagnostics System Diagnostica consente una grande flessibilità grazie alla possibilità offerta di impiegare tamponi di diluizione e lavaggio, TMB, soluzione bloccante di citrato e coniugato che soddisfano una vasta gamma di parametri. Gli controlli pronti all'uso (controllo positivo, controllo negativo, controllo cut-off) sono **specifici dei parametri** e possono essere impiegati soltanto con le piastre ad essi associate. Il certificato di controllo qualità del corrispondente kit di siero fornisce informazioni sulle combinazioni ammesse di piastre e standard.

1. Regolare l'incubatore su 37°C e verificare che questa temperatura sia stata raggiunta prima dell'inizio dell'incubazione.
2. Portare tutti i reattivi a temperatura ambiente; aprire la confezione delle strisce di reazione solo una volta raggiunta questa temperatura.
3. Agitare bene tutti i componenti liquidi prima dell'uso.
4. Diluire la soluzione concentrata per lavaggio con acqua distillata/demineralizzata fino a ottenere 1 litro (in caso di formazione di cristalli del concentrato, portarlo a temperatura ambiente prima della diluizione e agitare bene prima dell'uso).

## 7.3 Esecuzione del test VIROTECH ELISA CSF-DIAGNOSTIC

- Analizzare il campione liquor/siero su un'unica piastra, in linea di principio una accanto all'altra nella stessa seduta analitica.
  - Per il valore del bianco, i sieri standard, i sieri dei pazienti e i campioni di liquor raccomandiamo una doppia serie.
  - Per ridurre al minimo gli effetti matrice, utilizzare il liquor (CSF) nella diluizione operativa di 1:2, il siero 1:404.
1. Per ciascun test, pipettare **100µl di tampone di diluizione pronto all'uso** (bianco), di **standards**, di **campioni di liquor (LCS) diluiti** e di **sieri**.  
Diluizione operativa dei **sieri**: 1:404; (ad esempio, **5µl di siero + 500µl di tampone di diluizione (diluizione 1:101)**, diluire ulteriormente 1:4, ad esempio 100µl di miscela RF-SorboTech + 300µl di tampone di diluizione).  
Diluizione operativa del **liquor (LCS) 1:2**; ad esempio, **150µl di LCF (liquor) + 150µl di tampone di diluizione**.
  2. La dispensazione è seguita da un'incubazione per **30 min a 37 °C** (con pellicola protettiva).
  3. Il periodo d'incubazione viene concluso da **4 lavaggi**, ciascuno eseguito con **350-400µl** di soluzione di lavaggio per ogni pozzetto. Non lasciare la soluzione di lavaggio nei pozzetti. Gli ultimi residui di liquido devono essere eliminati rovesciando e battendo la piastra su un foglio di carta assorbente.
  4. Dispensare **100µl del coniugato pronto per l'uso** in tutti i pozzetti.
  5. Incubazione del coniugato: **30 min a 37°C** (con pellicola protettiva).
  6. Terminare l'incubazione del coniugato mediante **4 lavaggi** (vedere punto 3).
  7. Dispensare in ogni pozzetto **100µl** della soluzione per substrato **TMB** pronta per l'uso.
  8. Incubazione della soluzione per substrato: **30 min a 37°C** (con pellicola protettiva, tenere al buio).
  9. Bloccaggio della reazione del substrato: dispensare **50µl** della **soluzione bloccante di citrato** in ciascun pozzetto. Agitare con cautela e accuratamente la piastra fino alla completa miscelazione dei liquidi e alla comparsa di una colorazione gialla uniforme.
  10. Misurare le estinzioni (DO) a **450/620nm** (Lunghezza d'onda di riferimento 620-690nm). Regolare il fotometro in modo da poter sottrarre da tutte le altre estinzioni il valore del bianco misurato. **La misurazione fotometrica dovrebbe essere effettuata entro un'ora dall'aggiunta della soluzione bloccante.**

Vedere lo schema del test sull'ultima pagina

## 7.4 Impiego di strumenti ELISA

Tutti i test ELISA VIROTECH Diagnostics possono essere elaborati con strumenti ELISA. L'utilizzatore è tenuto ad eseguire regolari convalide dell'apparecchiatura.

VIROTECH Diagnostics raccomanda la seguente procedura:

1. In caso di installazione o di importanti riparazioni del processore ELISA, VIROTECH Diagnostics raccomanda di eseguire la convalida dell'apparecchio secondo le indicazioni del costruttore.
2. Per verificare l'accuratezza del processore, si raccomanda di controllare poi il processore ELISA con il kit di convalida (EC250.00). Questo regolare controllo con il kit di convalida dovrebbe essere eseguito almeno una volta ogni tre mesi.
3. Ogni ciclo di test eseguito deve rispondere ai criteri di idoneità del certificato di controllo qualità allegato al prodotto.

Questa procedura garantisce il perfetto funzionamento del processore ELISA e serve inoltre anche alla garanzia di qualità del laboratorio.

## 8. Valutazione del test CSF-DIAGNOSTIC

### 8.1 Controlli funzionali dei test

Per garantire la funzionalità ottimale del kit, i valori DO del siero standard IgG 100wME, nonché del siero standard IgG 6,2wME, devono trovarsi al di sopra dei valori minimi indicati sul certificato di controllo della qualità.

### 8.2 Valutazione

Per la quantificazione della concentrazione di anticorpi IgG specifici all'agente patogeno di siero-liquor, con l'ausilio dei sieri standard si disegna una curva di riferimento a mano sulla carta semilogaritica oppure tramite l'apposito strumento. A tal fine si riportano i valori DO dei sieri standard IgG sull'asse delle ordinate (asse y) e le concentrazioni di anticorpi dei sieri standard IgG espressi in wME sull'asse delle ascisse (asse x). La curva di riferimento disegnata a mano o tramite strumento (1,5wME, 6,2wME, 25wME, 100wME) dovrebbe presentare una pendenza sufficiente, un'origine prossima al punto origine delle coordinate e una discrepanza accettabile di tutti i punti dello sviluppo estrapolato della curva stessa.

Mediante lettura sulla curva, a questo punto si possono esprimere in wME i valori DO di siero-liquor che, dopo la moltiplicazione con i fattori di diluizione, corrispondono alle concentrazioni sieriche e di liquor degli anticorpi IgG specifici dell'agente patogeno. Per ottenere indici anticorporeali numericamente plausibili, si raccomanda di non includere in una valutazione valori DO inferiori a 0,05 e valori di wME inferiori a 1,5 e/o superiori a 100. Per valori di DO che danno valori superiori a 100wME, tenendo conto dei mutati rapporti di diluizione è possibile utilizzare una diluizione del siero superiore a 1:101 / 1:404 o una diluizione del liquor superiore a 1:2, considerando il rapporto di diluizione modificato. Durante la realizzazione della diagnosi del liquor, un giudizio sul siero-paziente diluito a 1:404 è impossibile nel senso di un cut-off superiore o inferiore.

### 8.3 Calcolo dell'indice degli anticorpi AI (con esempio)

Abbreviazioni

$IgG_{total}$  = IgG total (mg/l)

$IgG_{spez}$  = IgG specifico dell'agente patogeno

Q = quoziente

$Q_{alb}$  = quoziente derivato dalla concentrazione di albumina nel liquor (mg/l) e dalla concentrazione di albumina nel siero/necessario soltanto in relazione al calcolo del valore Limes!

#### 8.3.1 $QIgG_{spec}$ (quoziente di anticorpi dell'agente patogeno specifico)

##### Siero

- valore DO rilevato: 0,700
- concentrazione derivante dalla curva di riferimento: 3,5 wME
- diluizione 1:400

##### Liquor

- valore DO rilevato: 0,500
- concentrazione derivante dalla curva di riferimento: 2,5 wME
- diluizione 1:2

$$Q IgG_{spec.} = \frac{IgG_{Liquor\ spec.} (wME) \times diluizione}{IgG_{Serum\ spec.} (wME) \times diluizione} = \frac{2,5wME \times 2}{3,5wME \times 400} = 3,6 \times 10^{-3}$$

#### 8.3.2 $QIg_x$ (quoziente immunoglobuline totali: valore di chimica clinica)

- $IgG_{liquor}$  = 33mg/l
- $IgG_{siero}$  = 10.000mg/l

$$Q IgG_{tot.} = \frac{IgG_{Liquor\ tot.}}{IgG_{Serum\ tot.}} = \frac{33mg/l}{10.000mg/l} = 3,3 \times 10^{-3}$$

### 8.3.3 Calcolo quoziente di Limes ( $Q_{LIM}$ )

In caso di sintesi polispecifica intratecale delle immunoglobuline, per il calcolo dell'AI non è più possibile utilizzare il quoziente totale delle IgG e al suo posto si deve utilizzare il  $Q_{LIM}$ . A tal fine è necessario determinare anche il quoziente di albumina. (Valore di chimica clinica)

Calcolo del valore LIMES (secondo Reiber):

$$Q_{LIM-IgG} = 0,93 \times \sqrt{Q_{alb}^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1,7 \times 10^{-3}$$

### 8.3.4 Calcolo dell'indice degli anticorpi

#### A. $Q_{IgG} < Q_{LIM}$

L'indice degli anticorpi (AI) definisce il rapporto tra il quoziente di anticorpi specifici dell'agente patogeno e il quoziente di immunoglobuline totali. In tal modo è possibile rilevare e quantificare una sintesi di anticorpi specifica dell'agente patogeno. In questo caso, come parametro di barriera si utilizza il quoziente di immunoglobuline totali.

$$AI = \frac{Q_{IgG_{spec.}}}{Q_{IgG_{tot.}}} = \frac{\frac{IgG_{Liquor\ spec.} \times diluizione}{IgG_{Serum\ spec.} \times diluizione}}{\frac{IgG_{Liquor\ tot.}}{IgG_{Serum\ tot.}}} = \frac{3,6 \times 10^{-3}}{3,3 \times 10^{-3}} = 1,1$$

#### B. $Q_{IgG} > Q_{LIM}$

In presenza di un'ulteriore sintesi polispecifica intratecale delle immunoglobuline, non è più possibile utilizzare il quoziente delle immunoglobuline totali per il calcolo del valore AI, poiché una sintesi degli anticorpi ricercata ed eventualmente presente nello stesso momento può venire falsata in termini quantitativi o essere addirittura resa completamente irriconoscibile. In questi casi, con l'ausilio del quoziente di albumina da determinarsi in via supplementare si calcola (v. formula) o si determina graficamente il cosiddetto valore di Limes del quoziente delle immunoglobuline. Tale valore di Limes è poi utilizzato al posto del quoziente misurato delle immunoglobuline per calcolare il valore di AI.

$$AI = \frac{Q_{IgG_{spec.}}}{Q_{Lim}}$$

## 8.4 Interpretazione

Valutazioni di AI (11):

AI: < 0,6	non individuabile:	teoricamente non previsto, si verifica occasionalmente nella routine, senza tuttavia alcun significato patologico; è consigliabile la ricerca e risoluzione dell'errore
AI: 0,6 – 1,3	normale:	è improbabile una produzione intratecale di anticorpi
AI: 1,4 – 1,5	al limite:	si raccomanda di testare il campione ancora una volta oppure di eseguire il test su una seconda coppia di siero-liquor
AI: >1,5	patologico:	Indicazione di produzione intratecale di anticorpi

1. Poiché nel calcolo del valore di AI rilevante ai fini della diagnosi entrano in gioco come minimo quattro diversi risultati (anticorpi specifici dell'agente patogeno contenuti nel liquor e nel siero espressi in unità di misura, valore totale di IgG, nel liquor e nel siero, albumina nel liquor e nel siero in mg/l), in tale valore si sommano tutti gli errori accidentali metodologici. Nel caso più sfavorevole è possibile anche una propagazione di errori nella stessa direzione, che è possibile riconoscere in primissimo luogo mediante doppia determinazione oppure, meglio ancora, misurando due diverse diluizioni di materiali di teste. Per tale motivo, per l'indicazione di sintesi locale di anticorpi specifici dell'agente patogeno contenuti nel liquor ha già dato ottimi risultati un valore limite di AI clinicamente rilevante pari a 1,5.
2. Normalmente, per gli anticorpi specifici IgG dell'agente patogeno è presente la stessa distribuzione tra liquor e siero rilevata per la frazione sommaria di IgG. Il valore di AI teoricamente prevedibile è quindi pari a 1,0. Opportune indagini hanno mostrato che per tutti gli anticorpi specifici dell'agente patogeno si applica un range di riferimento compreso tra 0,6 - 1,5. I valori AI superiori a 1,5 vanno classificati come valori limite. In caso di sufficiente qualità analitica di tutti i singoli valori presi in esame, si possono considerare patologici valori di AI superiori a 1,5, che vanno caratterizzati da una sintesi propria del SNC dei corrispondenti anticorpi specifici dell'agente patogeno e di loro rilascio nell'area cerebrospinale.
3. Nella teoria non sono possibili valori di AI inferiori a 0,6, che di norma rimandano a errori analitici.

### 8.5 Limiti del test

1. In caso di concentrazioni estremamente elevate nel liquor o nel siero di anticorpi specifici dell'agente patogeno, esiste il pericolo che la concentrazione di antigeni disponibile nelle cavità non sia sufficiente e che quindi non possano essere rispettate le condizioni ottimali di determinazione quantitativa degli anticorpi. Se esiste il sospetto di eccesso di anticorpi (fare attenzione alla curva di Heidelberger e al risultato totale del liquor), si deve eseguire in seguito una seconda determinazione con una diluizione più elevata di siero o liquor.
2. Non possono essere escluse possibili reazioni incrociate, ad esempio attraverso la stimolazione delle cellule B policlonali.

## 9. Dati sulle Prestazioni CSF-Diagnostic

### 9.1 Sensibilità e specificità

Per stabilire la sensibilità, 24 coppie CSF/siero positive sono state testate VIROTECH Rubella CSF IgG ELISA in un altro ELISA come test di riferimento.

VIROTECH Rubella CSF IgG ELISA	Rifirimento ELISA		
	Positivo	Negativo	AI limite
Positivo	23	0	0
Negativo	1	0	0
AI limite	0	0	0

La sensibilità è del 96%.

Per stabilire la specificità, 35 coppie CSF/siero sono state testate VIROTECH Rubella CSF IgG ELISA e in un altro ELISA come test di riferimento.

VIROTECH Rubella CSF IgG ELISA	Reference ELISA		
	positive	negative	al limite
Positivo	0	0	0
Negativo	0	35	0
AI limite	0	0	0

La specificità è del 99.9%.

### 9.2 Coefficiente di variazione intradossaggio (ripetibilità)

In un test, strisce di piastre diverse di un lotto sono state testate con lo stesso campione di siero.

Il coefficiente di variazione ottenuto è < 9% (con un valore medio di OD di 0,25).

### 9.3 Coefficiente di variazione interdossaggio (riproducibilità)

Una coppia CSF/siero con un valore normale di AI e una coppia CSF/siero con un valore patologico sono state analizzate in 10 test indipendenti in laboratori diversi e da operatori diversi.

Il coefficiente di variazione risultante è stato inferiore al 20%.

## 10. Bibliografi

---

1. Inglese M. (2006), Multiple Sclerosis: New Insights and Trends, AJNR Am J Neuroradiol 27:954-57
2. Murray T.J. (2006), Diagnosis and treatment of multiple sclerosis, BMJ Volume 332
3. Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN), Leitlinien zu Diagnostik und Therapie der Multiplen Sklerose
4. Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft Bundesverband E.V.; Homepage Stand 2008
5. Polman C.H. (2005), Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2005 Revisions to the „McDonald Criteria“, Ann Neurol 2005, 58:840-846
6. Kahmann A. und Sindern E. (2003), psychoneuro, 29 (7+8), 332-335
7. Schmidt R. M. und Hoffmann F. (2002), Multiple Sklerose, 3. Auflage, Urban&Fischer Verlag
8. Felgenhauer K., Beuche W.(1999), Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen, Georg Thieme Verlag
9. Pohl D. et al (2004), CSF characteristics in early-onset multiple sclerosis, Neurology 2004, 63, 1966-1967
10. Reiber H., Liquordiagnostik, Homepage von Herrn Professor H. Reiber: Übersichtsartikel Liquordiagnostik für Neurologen.
11. Petereit, Sindern, Wick (2007): Leitlinien der Liquordiagnostik und Methodenkatalog der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie, Springer Verlag, ISBN 978-3-540-39017-6

## Preparazione dei campioni dei pazienti e soluzione di lavaggio

▼ **Soluzione di lavaggio:** diluire il concentrato con acqua distillata/demineralizzata fino ad ottenere 1 litro

▼ **Campioni di IgG– diluizione**  
**1:404**

▼ **Diluizione Liquor**  
**1:2**

per.es.:

1:101: 5 µl di siero/plasma + 500 µl di tampone per diluizione

1:404: 100 µl di siero diluito 1:101 +300 µl di tampone per diluizione

150 µl di campione di liquor +150 µl di tampone per diluizione

## Esecuzione del test

Preincubazione	<b>30 minuti a 37°C</b>	<b>100 µl campioni pazienti</b> Bianco (tampone per diluizione) e standard
↓		
Lavare 4 volte		<b>400 µl soluzione lavaggio</b> sgocciolare bene battendo la piastra
↓		
Incubazione coniugato	<b>30 minuti a 37°C</b>	<b>100 µl coniugato</b> IgG
↓		
Lavare 4 volte		<b>400 µl soluzione lavaggio</b> sgocciolare bene battendo la piastra
↓		
Incubazione substrato	<b>30 minuti a 37°C</b>	<b>100 µl substrato</b>
↓		
Bloccaggio		<b>50 µl soluzione bloccante</b> agitare con cautela
↓		
Misurare estinzione		<b>Fotometro a 450/620nm</b> <b>(Lunghezza d'onda di riferimento 620-690nm)</b>