

# **PDP IMM 064**

## **Ricerca degli anticorpi anti-emoagglutinina (anti-HA) dei virus dell'Influenza aviaria mediante prova di inibizione dell'emoagglutinazione (OIE Manual for Terrestrial Animals Cap. 3.3.4 par. B.2.3 2021)**

### **0. Matrice delle revisioni**

Rev.	Data	Descrizione	Redatto da	Verificato da	Approvato da
04	04.08.16	Revisione per aggiornamento normativo e per adeguamento al modulo IZS 005	Dr. C. Terregino	Dr.ssa P. Carnieletto	Direttore Sanitario Dr. S. Marangon
05	02.05.19	Aggiornamento formale del manuale OIE	Dr.ssa F. Gobbo L. Boscolo	Dr. C. Terregino Dr.ssa P. Carnieletto	Direttore Sanitario Dr.ssa A. Ricci
06	16.07.21	Revisione per aggiornamento anno OIE	Dr.ssa P. Perini	Dr.ssa P. Carnieletto	Direttore Sanitario Dr.ssa G. Capelli

### **1. Scopo e campo di applicazione**

La presente procedura ha lo scopo di descrivere le modalità operative per la ricerca degli anticorpi anti-HA (anti-emoagglutinina) dei virus dell'Influenza aviaria mediante prova di inibizione dell'emoagglutinazione.

La procedura si applica ai sieri di sangue di specie pollo (*Gallus gallus*) e ai sieri di altra specie aviaria. I sieri di specie diverse dal pollo devono subire un idoneo pre-trattamento per eliminare l'attività esercitata da agglutinine aspecifiche eventualmente presenti.

I virus dell'influenza aviaria possono essere classificati in 16 sottotipi (H1-H16) in base alla presenza sulla propria superficie dell'emoagglutinina (agente antigenico). Al fine di individuare anticorpi specifici nei confronti di un particolare sottotipo (es. H7), viene utilizzata la prova di inibizione dell'emoagglutinazione.

La procedura di prova prevede una prima fase di titolazione dell'antigene mediante prova di emoagglutinazione seguita dalla prova d'inibizione dell'emoagglutinazione sui sieri diluiti. Questa procedura recepisce la metodica descritta nel capitolo 3.3.4 par. B.2.3 2021 "Avian Influenza" del Manuale OIE.

## 2. Documenti di riferimento

- Decisione commissione 2006/437/CE che approva un manuale diagnostico per l'influenza aviaria secondo quanto previsto dalla direttiva 2005/94/CE del Consiglio;
- OIE, Manual for Terrestrial Animals Cap. 3.3.4. par. B.2.3 2021- *Avian influenza*;
- Fascicolo di validazione IMM064V

## 3. Definizioni e acronimi utilizzati

- **CSP:** Centro Servizi alla Produzione dell'IZSVe
- **G.R.:** Globuli Rossi
- **HA: Emoagglutinazione:** fenomeno caratteristico di alcuni microrganismi che permette al microrganismo stesso di legarsi in maniera più o meno reversibile ai globuli rossi di una determinata specie animale.
- **HAU: Unità emoagglutinante:** diluizione più alta dell'antigene virale presentante attività emoagglutinante
- **HI: Inibizione dell'emoagglutinazione:** test per l'individuazione di anticorpi specifici basato sull'inibizione del fenomeno di emoagglutinazione.
- **SCS6-U.O:** Struttura Complessa Sede 6 – Unità operative

## 4. Descrizione delle attività e responsabilità

Il Responsabile di Laboratorio o un suo delegato ha la responsabilità dell'organizzazione, del coordinamento e della verifica delle attività svolte dal personale tecnico qualificato all'esecuzione della presente procedura di prova.

Il personale tecnico qualificato ha la responsabilità:

- della corretta esecuzione della procedura di prova qui descritta,
- della tracciabilità dei campioni in esame durante tutta la seduta analitica,
- della corretta gestione dei reagenti, kit e materiali di riferimento e delle apparecchiature.

Il processo analitico, la qualifica del personale, la corretta performance delle apparecchiature e la gestione dei reagenti/kit/materiali di riferimento utilizzati sono descritte nei documenti correlati riportati al paragrafo 5, che completano con un approccio trasversale la presente procedura.

### 4.1 Attrezzature/strumenti/accessori

- Campionatore robotizzato per diluizione/dispensazione campioni (sistema di liquid handling) (opzionale)
- Congelatore a  $\leq -18^{\circ}\text{C}$
- Congelatore a  $\leq -70^{\circ}\text{C}$
- Frigorifero tra  $+2^{\circ}\text{C}$  e  $+8^{\circ}\text{C}$
- Microdiluitore /Pipetta multicanale
- Micropipette a volume variabile (range da 10 a 1000  $\mu\text{l}$ ) con relativi puntali
- Piastre da 96 pozzetti con fondo a V
- Pipette (range da 2 a 25 ml)
- Provette (range da 15 a 50 ml)
- Siringhe per microdiluitore
- Vetreria
- Dispositivi di protezione individuale (DPI) indicati al p.4.3

Per il corretto utilizzo e manutenzione delle apparecchiature fare riferimento ai relativi manuali d'uso e, ove previsti, ad altri documenti del sistema qualità (es. istruzioni operative (IO e IDD), procedure di taratura (PDT), allegati (ALL)).

#### 4.2 Reagenti/soluzioni/kit diagnostici

NOME DEL PRODOTTO	SPECIFICHE/NOTE	CONSERVAZIONE
PBS sterile	Prodotta e fornita dal CSP	Tra +2°C e +8°C fino a data di scadenza
Sospensione di globuli rossi di pollo all'1% e al 10%	Preparata secondo le indicazioni della IZS IDD 146 PR GRMR	Tra +2°C e +8°C con scadenza di una settimana dalla data di produzione
Sieri positivi di riferimento anti-sottotipo di virus influenzale oggetto della prova (*)	Prodotto e fornito da SCS6-U.O. Colture cellulari, reagenti e produzione	≤ -18°C fino a data di scadenza
Siero negativo anti sottotipo di virus infettivo oggetto della prova	Prodotto e fornito da SCS6-U.O. Colture cellulari, reagenti e produzione	≤ -18°C fino a data di scadenza
Antigene emoagglutinante (H1-16) del sottotipo di virus influenzale oggetto della prova (**)	Prodotto e fornito da SCS6-U.O. Colture cellulari, reagenti e produzione	≤ -18°C fino a data di scadenza
Acqua distillata sterile	Fornita da SCS6 Virologia Speciale e Sperimentazione	Temperatura ambiente

#### NOTE:

(\*) I sieri di riferimento sono forniti liofilizzati e conservati a ≤ -18°C. Dopo essere stati ricostituiti con 1 ml d'acqua distillata sterile vengono sub-aliquotati in apposite provette al fine di minimizzare gli stress termici del siero di riferimento. Il materiale di riferimento viene registrato nel modulo "DSBIO MOD 018 - Registro carico/scarico materiali di riferimento" o analogo modulo di struttura e conservato a ≤ -18°C.

(\*\*) Le fiale di antigene vengono liofilizzate e conservati a ≤ -18°C. All'uso vengono risospese con 1 ml in acqua distillata sterile, e registrati nel modulo "DSBIO MOD 018"; se non utilizzate completamente, possono essere conservate per un massimo di sette giorni in frigorifero tra +2°C e +8°C. Per gli antigeni utilizzati occasionalmente è opportuno conservare la fiala risospesa a ≤ -70°C e riutilizzarla per la produzione delle 4 HAU previo controllo del titolo in HA.

Poiché per tale test l'antigene deve essere utilizzato alla concentrazione di 4 HAU, si procede dopo ricostituzione dello stesso alla sua titolazione in HA; noto il titolo si esegue l'opportuna diluzione dell'antigene per ottenere le 4 HAU, il controllo di tale sospensione antigenica viene testata secondo quanto descritto in 4.4.3 ("controllo delle 4 HAU...").

#### 4.3 Norme di sicurezza

##### 4.3.1 Manipolazione di campioni identificati con bollino o timbro di “RISCHIO SANITARIO”:

ACCESSO AI LABORATORI E NORME DI COMPORTAMENTO	
Prima di iniziare le varie fasi di processo è obbligatorio indossare i seguenti DPI: guanti in lattice o nitrile monouso EN374 (protezione da microrganismi), maschera con filtro P3 (facciale filtrante P3 con valvola d'espansione EN149 –FFP3 –CE 0086) e occhiali protettivi (EN 166). I seguenti DPI devono essere indossati durante tutte le fasi della lavorazione dentro e fuori cappa.	
FASI DI PROCESSO	MISURE DI PREVENZIONE DA APPLICARE
Preparazione del campione per esame sierologico/ Esecuzione dell'analisi/ Lettura piastre	Utilizzare gli appositi DPI e gli appositi sistemi di aspirazione
Per tutte le fasi di processo	<b>Avvertenze:</b> frequente lavaggio delle mani con detergente disinfettante

##### 4.3.2 Manipolazione di campioni per esame sierologico

FASI DI PROCESSO	MISURE DI PREVENZIONE DA APPLICARE
Preparazione del campione per esame sierologico/ Esecuzione dell'analisi/ Lettura piastre	Utilizzare tuta monouso o camice, guanti in lattice o nitrile monouso
Per tutte le fasi di processo	<b>Avvertenze:</b> frequente lavaggio delle mani con detergente disinfettante
Analisi in automatico (campionatore robotizzato)	Lo strumento può essere utilizzato solo da personale addestrato. Abbassare lo schermo di protezione. Non introdurre le mani durante il funzionamento.

#### 4.4 Modalità operative

Le modalità operative di seguito descritte che prevedono la distribuzione di reagenti e campioni e, l'esecuzione di diluizioni, possono essere effettuate manualmente oppure in maniera opzionale con una campionatore robotizzato per diluizione/dispensazione campioni (sistema di liquid handling).

##### 4.4.1 Titolazione dell'antigene: Emoagglutinazione (HA)

- Preparare una piastra per micro titolazione a 96 pozzetti con fondo a V e porre, nelle prime tre file orizzontali (A, B e C. La fila C servirà per il controllo dei globuli rossi.) 25 µl di soluzione PBS (Vedi fig. 1)
- Aggiungere, nel primo pozzetto delle prime due file (A1 e B1), 25 µl di antigene emoagglutinante e diluirlo per raddoppio fino ai pozzetti A12 e B12
- Eliminare gli ultimi 25 µl
- Aggiungere 25 µl di PBS nelle file A, B e C
- Aggiungere in tutti i pozzetti 25 µl di sospensione di globuli rossi di pollo all'1%
- Agitare delicatamente la piastra
- Mantenere la piastra a temperatura ambiente per 30 minuti oppure per 1 ora a +4°C
- La lettura si effettua inclinando la piastra, di circa 80-90 gradi per osservare il fenomeno di emoagglutinazione. In caso di attività' emoagglutinante (risultato “POSITIVO”) si osserverà un reticolo omogeneo di globuli rossi sul fondo del pozzetto che si presenta immutato dopo inclinazione della piastra. Al contrario in caso di assenza di attività' emoagglutinante (risultato “NEGATIVO”) si formerà un precipitato sul fondo del pozzetto che con l'inclinazione della piastra formerà una goccia simile a quella osservata nei pozzetti denominati controllo G.R. (Fig. 1, fila c)
- Il titolo dell'antigene sarà l'ultima diluizione alla quale si osserva completa emoagglutinazione.

- I risultati sono validi se si ottiene un titolo uguale o una diluizione immediatamente superiore o inferiore al titolo previsto
- Riportare i risultati ottenuti nell'apposito modulo "DSBIO MOD 005" o analogo modulo di struttura

#### 4.4.2 Calcolo 4 HAU

Per la successiva prova di inibizione dell'emoagglutinazione è necessario avere un titolo virale pari a 4 HAU. Il calcolo delle unità emoagglutinanti si effettua come segue: l'ultimo pozzetto dove è presente attività emoagglutinante è considerata 1 HAU, per averne 4 si dovrà utilizzare la diluizione che contiene quattro volte quella concentrazione virale. Ad esempio, se si ha un'unità emoagglutinante alla diluizione di 1:512, le quattro unità si avranno diluendo il virus 1:128 (512: 4 = 128).

Figura 1: piastra per micro titolazione

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	Contr. G. R.
B	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
C	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
D	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
E	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
F	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
G	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
H	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

Legenda: Contr. G. R. = controllo Globuli Rossi all'1%

#### 4.4.3 Preparazione e diluizione dei sieri della specie pollo (*Gallus gallus*) e prova di inibizione dell'emoagglutinazione (HI)

- Conservare i sieri alla temperatura tra +2°C e +8°C fino al momento della prova
- Preparare un numero di piastre per microtitolazione a 96 pozzetti con fondo a V in base al numero di sieri da analizzare e al numero di sottotipi influenzali da testare per lo stesso campione. Considerare inoltre che l'ultima fila di ogni piastra dovrà essere utilizzata per il controllo delle 4 HAU e per il controllo dei globuli rossi. Per ogni lotto di piastre verrà inserito il siero di controllo positivo specifico per il sottotipo influenzale utilizzato e il siero di controllo negativo (compilando il modulo "DSBIO MOD 018").
- Numerare progressivamente le piastre e riportare in uno schema la distribuzione dei sieri nei pozzetti in modo tale che ogni siero sia sempre individuabile (modulo "DSBIO MOD 006 - scheda registrazione dati per prova di inibizione dell'emoagglutinazione" o analogo di struttura).
- In ogni piastra, distribuire 25 µl di PBS in tutti i pozzetti tranne nella fila orizzontale H che sarà usata per il controllo delle 4 HAU e per il controllo globuli rossi (fig. 2)
- Porre, nell'ultima fila orizzontale (H) della stessa piastra, 25 µl di PBS nei pozzetti da H2 ad H12.
- Aggiungere, nei primi pozzetti (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1) 25 µl di siero in esame (1 pozzetto per ogni campione in esame)
- Distribuire nel pozzetto riservato al controllo positivo 25 µl di siero positivo del sottotipo influenzale oggetto d'indagine e distribuire 25 µl di siero negativo nel pozzetto riservato al controllo negativo

- Diluire per raddoppio tutti i sieri in esame e i sieri di controllo positivi e negativi ed eliminare gli ultimi 25 µl
- Diluire l'antigene in PBS in modo da avere una sospensione virale contenente 4 (HAU) e mantenerlo a temperatura di refrigerazione fino al momento dell'utilizzo
- Aggiungere 25 µl di antigene diluito contenente 4 HAU in tutti i pozzetti (comprese le file contenenti i sieri di controllo) tranne nella fila H
- Aggiungere nei pozzetti H1 e H2 25µl di antigene diluito alle 4 HAU e, a partire dal pozzetto H2, diluirlo per raddoppio fino al pozzetto H6. Porre nella fila orizzontale H, 25 µl di PBS. In questa fila si otterrà il controllo delle 4 HAU e della sospensione di globuli rossi
- Agitare delicatamente la piastra e tenerla a temperatura ambiente per 30 minuti
- Aggiungere in tutti i pozzetti 25 µl di sospensione di globuli rossi di pollo all'1%.
- Agitare delicatamente la piastra e tenerla a temperatura ambiente per almeno 30 minuti oppure per 1 ora a +4°C
- I campioni possono anche essere diluiti tenendo la piastra in posizione verticale (H1-H11) e diluendo per raddoppio fino alla colonna A. In questo modo si otterrà una diluizione massima del siero di 1:256, verranno utilizzati sei pozzetti dell'ultima riga (12) per il controllo delle 4 HAU e due pozzetti della stessa riga per il controllo dei globuli rossi (fig. 3).

**Figura 2:** prova inibizione dell'emoagglutinazione: predisposizione dei controlli

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:102 4	1:204 8	1:409 6
A	S.1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
B	S.2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
C	S.3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
D	S.4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
E	S.5	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
F	Cont r+	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
G	Cont r-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
H		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		Contr. 4HAU						Contr. G.R.					

Contr. 4 HAU= controllo 4 unità emoagglutinanti

Contr. G.R.= controllo globuli rossi

Contr. + = siero di controllo positivo

Contr. - = siero di controllo negativo

S 1....S 5= sieri in esame 1, 2....

**Figura 3:** prova di inibizione dell'emoagglutinazione: diluizione per raddoppio

		H	G	F	E	D	C	B	A	
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	
1	S.1	○	○	○	○	○	○	○	○	
2	S.2	○	○	○	○	○	○	○	○	
3	S.3	○	○	○	○	○	○	○	○	
4	S.4	○	○	○	○	○	○	○	○	
5	S.5	○	○	○	○	○	○	○	○	
6	S.6	○	○	○	○	○	○	○	○	
7	S.7	○	○	○	○	○	○	○	○	
8	S.8	○	○	○	○	○	○	○	○	
9	S.9	○	○	○	○	○	○	○	○	
10	Contr +	○	○	○	○	○	○	○	○	
11	Contr -	○	○	○	○	○	○	○	○	
12		○	○	○	○	○	○	○	○	
		Contr. 4HAU						Contr. G.R		

Contr. 4 HAU= controllo 4 unità emoagglutinanti

Contr. G.R.= controllo globuli rossi

Contr. + = siero di controllo positivo

Contr. - = siero di controllo negativo

S.1....S.409= sieri in esame 1, 2....

#### 4.4.3.1 Preparazione e diluizione dei sieri della specie diversa dal pollo (*Gallus gallus*) e prova di inibizione dell'emoagglutinazione (HI)

- Conservare i sieri alla temperatura tra +2°C e +8°C fino al momento della prova
- Preparare un numero di piastre per microtitolazione a 96 pozzetti con fondo a V in base al numero di sieri da analizzare e al numero di sottotipi influenzali da testare per lo stesso campione. Considerare inoltre che l'ultima fila di ogni piastra dovrà essere utilizzata per il controllo delle 4 HAU e per il controllo dei

globuli rossi. Per ogni lotto di piastre verranno inseriti il siero di controllo positivo specifico per il sottotipo influenzale e il siero di controllo negativo (compilando il modulo "DSBIO MOD 018").

- Numerare progressivamente le piastre e riportare in uno schema la distribuzione dei sieri nei pozzetti in modo tale che ogni siero sia sempre individuabile (modulo "DSBIO MOD 006" o analogo di struttura) Porre per ogni piastra, nei primi 7 pozzetti della colonna 1 (da A1 a G1), 50 µl di soluzione PBS
- Lasciare la colonna 2 vuota
- Distribuire nei rimanenti pozzetti della piastra 25 µl di PBS, tranne nella fila orizzontale H, che verrà utilizzata per il controllo della 4 HAU e per il controllo dei globuli rossi
- Porre, nell'ultima fila orizzontale (H), 25 µl di PBS nei pozzetti da H2 a H12 (vedi fig. 2)
- Porre 25 µl di PBS in tutti i pozzetti riservati ai sieri di controllo positivo e negativo i quali verranno trattati come normali sieri di pollo
- Distribuire, nei primi pozzetti (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1) 25 µl di siero in esame (1 pozzetto per ciascun campione in esame)
- Distribuire nel pozzetto riservato al controllo positivo 25 µl di siero positivo del sottotipo influenzale oggetto d'indagine e distribuire 25 µl di siero negativo nel pozzetto riservato al controllo negativo
- Diluire per raddoppio i sieri controllo positivi e negativi ed eliminare gli ultimi 25 µl
- Aggiungere, ai primi pozzetti contenenti i sieri in esame (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1) 25 µl di sospensione di globuli rossi di pollo al 10%. Viene in questo modo fatto il pretrattamento dei sieri nei pozzetti della prima colonna (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1), i quali non vengono considerati nella lettura dei risultati.
- Lasciare a temperatura ambiente per 30 minuti oppure per 1 ora a +4°C
- Distribuire 25 µl di surnatante dei pozzetti della colonna 1 a quelli della colonna 2 (siero diluito 1:4)
- Distribuire 25 µl di surnatante dai pozzetti della colonna 1 ai pozzetti della colonna 3 (diluizione 1:8) e da questa ultima colonna diluire i sieri per raddoppio fino all'ultimo pozzetto ed eliminare gli ultimi 25 µl
- Diluire l'antigene in PBS in modo da avere 4 HAU e mantenerlo a temperatura di refrigerazione fino al momento dell'uso
- Aggiungere 25 µl antigene diluito contenente 4 HAU in tutti i pozzetti (comprese le file contenenti i sieri di controllo) tranne nella fila H
- Aggiungere ai pozzetti H1 e H2 25µl di antigene e, a partire dal pozzetto H2, diluirlo per raddoppio fino al pozzetto H6.
- Aggiungere in tutta la fila H 25 µl di soluzione PBS. In questa fila si otterrà il controllo delle 4 HAU e dei globuli rossi
- Agitare delicatamente la piastra e tenerla a temperatura ambiente per 30 minuti oppure per 1 ora a +4°C
- Aggiungere in tutti i pozzetti 25 µl di sospensione di globuli rossi di pollo all'1%
- Agitare delicatamente la piastra e tenerla a temperatura ambiente per 30 minuti oppure per 1 ora a +4°C
- I campioni possono anche essere diluiti tenendo la piastra in posizione verticale (H1-H11) e diluendo per raddoppio fino alla colonna A. In questo modo si otterrà una diluizione massima del siero di 1:256, verranno utilizzati sei pozzetti dell'ultima riga (12) per il controllo delle 4 HAU e due pozzetti della stessa riga per il controllo dei globuli rossi (fig. 3).

#### 4.4.4 Lettura

La lettura si effettua tenendo la piastra in posizione inclinata di circa 80-90 gradi ed osservando fino a quale diluizione il siero inibisce l'emoagglutinazione, ovvero fino a quale diluizione del siero, tenendo la piastra in posizione verticale, vi è la formazione di gocce che "scorrono" alla stessa velocità dei globuli rossi di controllo (annotare i dati nel modulo "DSBIO MOD 006" o analogo di struttura).

I risultati sono validi se:

- il controllo delle 4 HAU dà i seguenti risultati: emoagglutinazione completa nei primi 3 pozzetti (rispettivamente 4, 2 ed 1 unità), emoagglutinazione parziale nel quarto pozzetto (0,5 unità), e assenza di emoagglutinazione negli ultimi due pozzetti.
- si ottiene un titolo inferiore a 1:8 con il siero negativo di controllo e un titolo uguale o una diluizione immediatamente superiore o una inferiore al titolo noto del siero positivo di controllo.

Qualora i controlli non dovessero fornire i risultati attesi, deve essere contattato il responsabile di laboratorio o un suo delegato il quale fornirà indicazioni sui provvedimenti da prendere per la risoluzione del problema.



NB: Nel caso dei sieri di specie diversa dal pollo, tenere presente che la prima diluizione del siero non viene presa in considerazione a causa del pretrattamento del siero.

#### 4.5 Espressione dei risultati

Il titolo anticorpale riportato nel rapporto di prova è dato dalla massima diluizione del siero in grado di inibire la reazione di emoagglutinazione, ovvero si riporta la diluizione del siero più alta che determina la formazione della goccia di globuli rossi, ad esempio 1:128.

I sieri che hanno titolo  $\geq 1:16$  vengono definiti ed espressi in rapporto di prova come **"POSITIVO"**, seguita dalla diluizione.

I sieri che hanno un titolo maggiore o uguale a 1:4096, vengono definiti ed espressi in rapporto di prova come **"POSITIVO  $\geq 1:4096$ "**.

I sieri con titolo  $\leq 1:8$  vengono definiti ed espressi in rapporto di prova come **"NEGATIVO"**.

Il campione che fornisce risultati non interpretabili viene definito ed espresso in rapporto di prova come **"INADATTO"**.

#### 4.6 Caratteristiche del metodo

Essendo la prova una prova validata e normata a livello nazionale e dell'UE, è pertanto considerata metodica di riferimento o *"gold standard"*. La sensibilità analitica viene valutata mediante il titolo del siero di riferimento positivo, in ogni seduta di lavoro.

Per le caratteristiche del metodo si faccia riferimento a quanto dichiarato nel modulo "IZS MOD 031 - Dichiarazione di validazione/verifica delle prestazioni ed idoneità del metodo di prova" che costituisce parte integrante della presente procedura."

#### 4.7 Gestione dei rifiuti prodotti dalla procedura

Per l'evidenziazione delle tipologie dei rifiuti derivati dall'esecuzione della procedura, fare riferimento all'allegato "IZS ALL 006 (IZS IO 033) Tipologia rifiuti standardizzati nell'ambito di metodi di diagnosi di tipo sierologico".

#### 4.8 Rapporto di prova

Il rapporto di prova viene redatto, approvato ed emesso in conformità a quanto previsto dal Manuale della Qualità.

### 5. Documenti allegati e/o correlati

- **Manuale della Qualità MQ;**
- **PR 01:** Gestione Processo Analitico;
- **PR 06:** Gestione delle competenze del personale;
- **PR GAPP:** Gestione apparecchiature;
- **PR GRMR:** Gestione reagenti, kit e materiali di riferimento;
- **PR SVVP:** Gestione sviluppo, validazione e verifica prestazione dei metodi di prova;
- **IZS ALL 006 (IZS IO 033):** Tipologia rifiuti standardizzati nell'ambito di metodi di diagnosi di tipo sierologico;
- **IZS IDD 146 (PR GRMR):** preparazione di globuli rossi di specie aviare;
- **DSBIO MOD 005:** Scheda registrazione dati per prova di titolazione/emoagglutinazione;
- **DSBIO MOD 006 (PDP IMM 064 e IMM 065):** Scheda registrazione dati per prova di inibizione dell'emoagglutinazione;
- **DSBIO MOD 018:** Registro carico scarico materiali di riferimento.