

Uso previsto

Determinazione quantitativa della proteina c-reattiva nel siero o nel plasma mediante saggio immunoturbidimetrico potenziato con particelle di lattice, utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

Introduzione

La proteina c-reattiva (PRC) è una proteina di fase acuta coinvolta nell'attivazione dei complementi, nell'accelerazione della fagocitosi e nella detossificazione delle sostanze rilasciate da tessuti danneggiati. La PCR è considerata uno degli indicatori di infiammazione più sensibili. In risposta a uno stimolo infiammatorio, è possibile rilevare un aumento della PCR entro 6 ore. La PCR è un indicatore sensibile, anche se considerato non specifico, dei reagenti di fase acuta.^{1,2,3}

Di solito la misurazione della proteina C-reattiva viene utilizzata per valutare le lesioni ai tessuti o per rilevare un evento infiammatorio in qualche regione dell'organismo. I livelli di PCR nel siero sono generalmente elevati nei pazienti con artrite o patologie epatiche come l'epatite A, l'epatite B o la cirrosi biliare e in seguito a infezioni gravi come uno shock settico.

Il kit PCR-HS è destinato alla determinazione quantitativa della PCR umana mediante saggio immunoturbidimetrico potenziato con particelle di lattice (ITA). Sono stati descritti metodi ITA per la determinazione quantitativa dei complessi di immunoprecipitazione di anticorpi e antigeni.^{4,5,6,7}

Principio base del test

Le particelle di lattice rivestite con anticorpi specifici per la PCR umana si aggregano in presenza di PCR del campione formando immunocomplessi. Gli immunocomplessi causano un aumento della diffusione della luce proporzionale alla concentrazione di PCR nel siero. La diffusione della luce viene misurata leggendo la torbidità (assorbanza) a 570 nm. La concentrazione di PCR è determinata in base a una curva di calibrazione sviluppata a partire da standard di PCR a concentrazione nota.

Reagenti

R-1: Reagente tampone

Tampone glicina: 170 mM

R-2: Sospensione di lattice

Particelle di lattice rivestite con anticorpi di coniglio anti PCR umana: 0,20% (p/v)

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono pronti all'uso e non necessitano di ricostituzione. Mescolare delicatamente prima dell'uso.

Conservazione e stabilità dei reagenti

- Tutti i reagenti devono essere conservati a 2-8°C e al riparo dalla luce.
- I reagenti non aperti possono essere utilizzati fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione e del flacone.
- Una volta aperto il flacone di reagente, conservarlo ben chiuso a 2-8°C e utilizzarlo nell'arco di un mese.

Precauzioni

- Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*.
- Non indicato per uso interno nell'uomo o negli animali. Adottare le normali precauzioni per la manipolazione dei reagenti di laboratorio.
- Non mescolare o utilizzare i reagenti di un kit insieme a quelli di un altro lotto.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del rispettivo contenitore.
- Non pipettare per bocca. Evitare l'ingestione e il contatto con la pelle.
- I reagenti di questo kit contengono <0,1% (p/v) di sodio azide come conservante, che può formare composti esplosivi nelle condotte di scarico metalliche. Quando si smaltiscono i reagenti attraverso le tubature, sciacquare con abbondanti quantità di acqua.
- Tutti i campioni, i controlli e i calibratori vanno trattati come potenzialmente infettivi, applicando procedure di laboratorio sicure (NCCLS M29-T2).⁸

Raccolta e conservazione dei campioni

- È preferibile utilizzare siero appena prelevato, da analizzare il giorno del prelievo. I campioni possono anche essere conservati in frigorifero (2-8°C) per una settimana o a -30°C per un anno. Per questo test, utilizzare campioni non diluiti.
- Si possono utilizzare anche campioni di plasma con eparina di litio o EDTA.
- Per conservare i campioni, utilizzare provette in plastica, non in vetro.
- Raccogliere i campioni secondo le linee guida del documento NCCLS H4-A3.⁹

Interferenze

- Tutti gli studi sulle interferenze sono stati eseguiti applicando le procedure raccomandate dalle linee guida NCCLS n. EP7-P per i test di interferenza in chimica clinica.¹⁰
- Emoglobina fino a 500 mg/dl, lipidi (trigliceridi) fino a 3000 mg/dl, bilirubina fino a 30 mg/dl e RF fino a 560 UI/ml non hanno provocato interferenze con il test.
- La presenza di particelle di polvere o di altro particolato nella soluzione di reazione può provocare una diffusione di luce estranea, che può influire sull'accuratezza del test.
- Per maggiori informazioni su altre sostanze interferenti, si rimanda a Young, et al.¹¹

Materiali in dotazione

- Reagente 1 (R-1): Reagente tampone
- Reagente 2 (R-2): Sospensione di lattice

Materiali necessari non in dotazione

- Calibratori multipunto: kit di calibratori multipli per PCR, numero di catalogo C7568-STD. Valori approssimativi: 2,5; 10,0; 20,0; 80,0; 160,0 mg/L.
- Kit di controlli per PCR, numero di catalogo C7568-CTL.
- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Soluzione fisiologica isotonica
- Pipette in grado di erogare con precisione i volumi richiesti

Parametri di analisi

Analisi:	PCR	Sostanza chim.:	PCR
N. chim.:	214	Nome etichetta:	PCR
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	578 nm	Lungh. d'onda sec.:	
Decimale:	0.1	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	1 18
Unità:	mg/L	T. incubazione:	3

Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard; 4,7	ul	ul	R1: 120	ul
Decremento; 4,7	ul	30	ul	R2: 120
Incremento:	ul	ul	ul	ul

Intervallo linearità (standard); 0.1-160	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento): 0.5-800	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix: -40000 40000
Assorb. bianco R1: -40000 40000	Stabilità in macchina: 30 Giorni
Risposta bianco -40000 40000	Limite allarme reagente: 5
Doppia chim.:	

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	mg/L	

Tratt. preliminare:	
Vol. campione pretratt.:	Vol. reagente pretratt.:
ul	ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:

Kit reagenti ad ampio spettro Proteina C-reattiva HS Pointe

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim. PCR Impostazioni calibr.: Modello mat.: Spline Fattore: Repliche: 1 Limiti accettabilità T. calibr.: 336 h Diff. pendenza: DS: Sensibilità: Ripetibilità: Coeff. deter.: Calibr. autom. T. calibr.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Calibratore</th> <th>Conc.</th> <th>Pos.</th> <th>N. lotto:</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>acqua</td> <td>0,0</td> <td>W</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Cal</td> <td>*</td> <td>*</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: right;">*Def. utente</p>	Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:	acqua	0,0	W		Cal	*	*	
Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:										
acqua	0,0	W											
Cal	*	*											

Curva di calibrazione

Si raccomanda di sviluppare una curva di calibrazione a più punti utilizzando un kit di standard multipli per PCR. Si raccomanda di definire la frequenza di calibrazione, che dipenderà dallo strumento e dal tipo/numero di altri test in corso. Inizialmente, la calibrazione dovrebbe essere eseguita quotidianamente.

Controllo qualità

Si raccomanda di inserire in tutti i test un siero di controllo con concentrazioni note di PCR, comunemente reperibile in commercio. Si consigliano livelli di concentrazione compresi tra 2,5 mg/L e 55,0 mg/L. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Calcoli

I livelli di PCR vengono rilevati dall'analizzatore automatico utilizzando la curva di calibrazione predefinita.

Limitazioni della procedura

- Utilizzando il kit di calibratori multipli per PCR del produttore e parametri strumentali corretti, l'intervallo misurabile della PCR-HS è compreso tra 0,1 e 160,0 mg/L
- Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del kit. Non mescolare reagenti con numeri di lotto diversi.
- Se la concentrazione di PCR è superiore al valore più alto del calibratore, diluire una parte di campione con quattro parti di soluzione fisiologica isotonica e ripetere il test. Moltiplicare i risultati per 5 per compensare la diluizione.

Prestazioni

I seguenti dati sulle prestazioni sono stati ottenuti utilizzando un analizzatore Hitachi 717 e un protocollo standard.

Sensibilità

Quando si usa la soluzione salina come un campione, l'intervallo di variazione dell'assorbanza al minuto è compreso tra -0,0050 e 0,0050, mentre in una soluzione standard di PCR contenente 10,00 mg/L è compreso tra 0,0650 e 0,1000, una volta sottratto il bianco di soluzione salina.

Specificità

Se si analizza un siero con un livello di PCR noto (2,5 mg/L), il valore del saggio sarà compreso tra $\pm 10\%$.

Precisione

I campioni analizzati erano sieri umani di controllo per PCR comunemente in commercio. Gli studi sono stati eseguiti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS.¹²

Campione I	Intra-giom. Campione II
N=20	N=20
Media=2,31 mg/L	Media=44,92 mg/L
DS=0,04	DS=0,24
CV=1,90%	CV=0,50%

Campione I	Campione II	Campione III
N=21	N=21	N=21
Media=0,47 mg/L	Media=2,18 mg/L	Media=9,76 mg/L
DS=0,03	DS=0,07	DS=0,12
CV=6,97%	CV=3,34%	CV=1,23%

*NOTA: I dati inter-giornalieri non rispecchiano i risultati dell'analizzatore Yumizen serie 200.

Intervallo di analisi

0,1– 160,0 mg/L

Limite inferiore di rilevabilità

0,1 mg/L

Sensibilità funzionale

Fino ad almeno 0,15 mg/L

Correlazione

$y = 1,036x - 0,44$

$r = 0,996$ (n = 38, intervallo=0,2 – 17,9 mg/L)

x = CRP (HS) analizzatore analogo.

y = CRP(HS) analizzatore Mindray BS-200

Valori attesi

Il valore atteso per la PCR in individui sani è inferiore a 3,0 mg/L.¹³ Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento.

Riferimenti bibliografici

- Osmond, A.P., et al, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74:739-743, 1977.
- Pepys, M.B. *Lancet.* 1:653-657, 1981.
- Schultz, D.R. and P.I. Arnold. *Semin. Arthritis Rheum.* 20 (3):129-147, 1990.
- Killingsworth, L.M. and J. Savory. *J. Clin. Chem.* 19:403-407, 1973.
- Lizana, J. and K. Helling. *Clin. Chem.* 20:1181, 1974.
- Otsuji, S., et al, *Clin. Chem.* 28:2121-2124, 1982.
- Malkus, H., et al, *Clinica Chimica Acta*, 88:523-530, 1978.
- Documento NCCLS document, "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- Documento NCCLS, "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3rd Ed. (1991).
- Documento NCCLS, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
- Young, D.S., et al, *Clin Chem* 21:1D, 1975.
- Documento NCCLS, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)
- Liuzzo, G., et al, *N Eng J Med*, 331:417-424, 1994.
- U.S. Patent nos. 6,248,597; 6,828, 158.

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	Fabbrikante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
CE Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-C7568-40	Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188	IVD
------------------------	---	------------

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Bruxelles, BELGIO
tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.