

REF 10228-4 4 x 9 ml / 9 ml

REAGENTE PER PROTEINA C REATTIVA (CRP)

Flaconi contenenti ciascuno 9 ml di reagente R1 e 9 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

Il reagente per proteina C reattiva Medica è inteso per l'uso nella misurazione quantitativa diagnostica in vitro della proteina C reattiva (CRP) nel siero o nel plasma umani utilizzando l'analizzatore chimico clinico EasyRA®. La misurazione della proteina C reattiva è utile nella valutazione dell'entità delle lesioni dei tessuti corporei. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE^{1,2,3}

La proteina C reattiva è presente nel siero o nel plasma di individui sani a concentrazioni di 0-5 mg/L. Livelli elevati sono associati a una risposta in fase acuta e le misurazioni possono essere utili per il rilevamento di infezione, lesione tissutale, disturbi infiammatori e patologie associate.

L'aumento dei valori della proteina C reattiva è aspecifico e non deve essere interpretato senza una valutazione completa dell'anamnesi del paziente. I livelli di proteina C reattiva nell'intervallo normale possono essere influenzati da diversi fattori e devono sempre essere comparati a valori precedenti.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il CRP è un immunodosaggio turbidimetrico che utilizza due reagenti in sequenza. Viene effettuata la reazione del campione di siero o plasma inizialmente con un tampone (R1) contenente albumina serica bovina, e quindi con particelle di lattice rivestite di anticorpo alla proteina C reattiva (R2). La formazione del complesso anticorpo-antigene durante la reazione dà luogo a un aumento della torbidità, misurata come quantità di luce assorbita a 600 nm. L'aumento dell'assorbanza è proporzionale alla concentrazione di proteina C reattiva nel campione di siero o plasma. Costruendo una curva standard sulla base dell'assorbanza degli standard, è possibile determinare la concentrazione di proteina C reattiva del campione utilizzando una routine di adattamento della curva di spline.

REAGENTI

Reagente per proteina C reattiva (R1):

Reagente tampone glicina	170 mM
Cloruro di sodio	100 mM
Sale bisodico diidrato del sodio EDTA	50 mM
Albumina serica bovina	1%
Sodio azide	< 0,1%

Reagente per proteina C reattiva (R2):

Particelle di lattice rivestite di anticorpo della proteina C reattiva a CRP	
Sodio azide	< 0,1%

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. Questo materiale contiene sodio azide come conservante. Evitare l'ingestione o il contatto con pelle e mucose. In caso di contatto con la pelle, lavare l'area interessata con abbondante acqua. In caso di ingestione o di contatto con gli occhi, consultare immediatamente un medico. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza presente sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2-8 °C. I reagenti devono essere mescolati accuratamente e la loro temperatura deve essere uniformata a quella del sistema EasyRA per circa 30 minuti prima del loro utilizzo nell'analizzatore. Non utilizzare il reagente R1 qualora si presenti torbido od opaco.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ⁴

Il campione deve essere costituito di siero o plasma freschi e deve essere tenuto refrigerato (2-8°C) fino all'analisi. È possibile conservare i campioni fino a 1 settimana a 2-8°C. Se i campioni devono essere conservati oltre 1 settimana prima di analizzarli, è possibile congelarli a < -20 °C fino a 6 mesi. I campioni possono essere congelati una sola volta. Fare riferimento a CLSI H18-A per ulteriori istruzioni sul prelievo, il trattamento e la conservazione dei campioni.

PROCEDURA

Materiale fornito:

Flacone di reagente per proteina C reattiva Medica, REF 10228-4

Ulteriore materiale necessario

Kit di calibrazione per proteina C reattiva Medica EasyCal: REF 10659

Controllo qualità per proteina C reattiva Medica EasyQC®, Livello 1: REF 10797

Controllo qualità per proteina C reattiva Medica EasyQC, Livello 2: REF 10798

Controllo qualità per proteina C reattiva Medica EasyQC, Livello 3: REF 10799

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660 o

Flacone di detergente Medica – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore chimico Medica EasyRA situato nell'area reagenti. Se usato in questo modo, il reagente è stabile on-board nel vano reagenti refrigerato dell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone di reagente (61 giorni massimo).

Nota: Verificare che non sia presente schiuma nella parte interna del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e aver collocato il flacone sull'analizzatore. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test. Usare pipette monouso o tamponi diversi per i reagenti R1 e R2.

Calibrazione

Per la calibrazione dell'analisi si consiglia il kit di calibrazione per proteina C reattiva Medica EasyCal (REF 10659). La concentrazione di proteina C reattiva nei campioni incogniti è derivata da una curva di calibrazione utilizzando un appropriato modello matematico, come la spline. La curva di calibrazione è ottenuta con 6 calibratori (del set multicalibratore) a livelli diversi. I corrispondenti valori dei calibratori sono elencati nell'inserto informativo del kit di calibrazione per proteina C reattiva EasyCal. L'intervallo di calibrazione multipunto (massimo 61 giorni) è programmato sul chip RFID posto sul flacone del reagente. Ogni qual volta il numero di lotto cambia o si verifica uno spostamento nei valori di controllo qualità è necessario eseguire nuovamente la calibrazione.

Controllo qualità

Utilizzare il materiale di controllo qualità per proteina C reattiva EasyQC, Livello 1 (REF 10797), Livello 2 (REF 10798) e Livello 3 (REF 10799).

Si consiglia di eseguire tre livelli di controllo del siero umano con l'analisi quotidianamente, ogni volta che vengono eseguiti i test di un paziente e il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. È necessario in questo caso ripetere la procedura, verificando che siano strettamente seguite le istruzioni di mescolamento e di manipolazione. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve inoltre attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato il test, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione di proteina C reattiva di ciascun campione. La concentrazione è derivata da una curva di calibrazione multipunto che utilizza un modello matematico idoneo come la spline.

Valori attesi

Ciascun laboratorio deve stabilire il proprio intervallo di valori attesi nell'uso del kit, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali. Il valore riportato per la proteina C reattiva è 0,5-160 mg/L, e la concentrazione di proteina C reattiva in un campione medio di un individuo sano deve essere ≤ 5 mg/L.⁵

Limiti procedurali e intervallo accettabile (ad es., se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

L'analizzatore EasyRA evidenzia qualunque risultato al di sopra dei 160 mg/l di proteina C reattiva come "LH" (linearità alta). I campioni con valori superiori a 160 mg/L devono sottoposti a nuovo test. Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando un terzo (1/3) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test per la proteina C reattiva viene esteso a 480 mg/L. I campioni al di sotto di 0,5 mg/L saranno evidenziati con "LL" (linearità bassa) e devono essere riportati come $<0,5$ mg/L.

Caratteristiche di prestazione

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 0,5 e 160 mg/l. L'intervallo esteso è compreso tra 0,5 e 480 mg/l quando viene usato un terzo del campione (fattore di diluizione 1:2).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente per proteina C reattiva Medica (Y) su un analizzatore EasyRA con la prestazione di un reagente per proteina C reattiva approvato dalla FDA (X) sull'analizzatore Hitachi® 911* utilizzando campioni di siero. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni del siero ottenute sull'analizzatore EasyRA rispetto alla media dei valori replicati ottenuti sull'analizzatore Hitachi 911.

Siero:	Numero di campioni	67	Intervallo dei campioni	0,90 - 153,2 mg/L
	Pendenza	1,0001	Intercetta y	-0,0175
	Coefficiente di correlazione	0,9988	Equazione di regressione	$Y = 1,0001x - 0,0175$

* Hitachi è un marchio registrato di Kabushiki Kaisha Hitachi Seisakusho DBA Hitach, Ltd. CORPORATION JAPAN 6-6, Marunouchi 1-chome, Chiyoda-ku Tokyo GIAPPONE 100-8220.

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (X) e plasma (Y) trattato con litio-eparina con il reagente per proteina C reattiva Medica sull'analizzatore EasyRA. I dati riportati nella tabella seguente rappresentano i valori medi ottenuti con l'analizzatore EasyRA.

Plasma:	Numero di campioni	51	Intervallo dei campioni	0,51 - 151 mg/L
	Pendenza	1,0021	Intercetta y	-0,0067
	Coefficiente di correlazione	0,999	Equazione di regressione	$Y = 1,0021x - 0,0067$

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia l'imprecisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC (mg/L)	SD intra-serie (mg/L)	CV intra-serie (%)
2,7	0,06	2,33
22,8	0,34	1,50
135,0	1,82	1,35

Imprecisione totale:

Livello QC (mg/L)	SD imprecisione totale (mg/L)	CV imprecisione totale (%)
2,7	0,09	3,32
22,8	0,65	2,85
135,0	3,29	2,44

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 0,5 a 160 mg/l per la proteina C reattiva, basata sulla regressione lineare $Y = 1,0086x + 0,0526$

Limite di vuoto: 0,04 mg/L (CLSI, EP17-A)

Limite di rilevamento: 0,16 mg/L (CLSI, EP17-A)

Limite di quantificazione: 0,5 mg/L (CLSI, EP17-A)

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Cambiamenti inferiori al 10% del valore sono stati classificati come "interferenze non significative".

Sono state valutate le seguenti sostanze:

In livelli fino a 1000 mg/dL di emoglobina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 30 mg/dL di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 27 mg/dL di bilirubina coniugata non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 1750 mg/dL di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid®*).

In livelli fino a 500 mg/dL di acido ascorbico non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 1024 UI/ml di fattore reumatoide non sono state riscontrate interferenze significative.

Fino a una concentrazione di 2800 mg/l di proteina C reattiva non è stato osservato alcun effetto gancio.

**Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC (USA).*

Riferimenti

1. Kuller L.H., Tracy T.R., Shaten J., Mellahn E. (1996) Relation of C-reactive Protein and Coronary Heart Disease in the MRFIT nest case-control study. American Journal of Epidemiology Vol 144 (6):537-547.
2. Thomas S.G., Kienast J., Pyke S., Haverkate F., van de loo J. (1995) Hemostatic Factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. New England Journal of Medicine 332: 635-641.
3. Kindmark CO. The concentration of C-reactive Protein in sera from healthy individuals. Scand J Clin Lab Invest 1972;229: 407-411.
4. Tietz, N.W. (Ed), Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders C., Toronto, 636-638, 937 (1970).
5. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th edition, Saunders Elsevier, St. Louis, MO 480-483 (2006).

Parametri dell'analisi EasyRA (CRP)

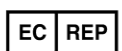
Lunghezza d'onda primaria (nm)	600
Lunghezza d'onda secondaria (nm)	N/D
Tipo di reazione	Punto finale speciale (Immunodosaggio)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	No
Bianco campione	No
Tempo di reazione	10 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	61 giorni
Stabilità on-board del reagente	61 giorni

Siero/Plasma

Volume del campione (µl)	3,0
Volume del diluente 1 (µl)	20
Volume del diluente 2 (µl)	20
Volume del reagente R1 (µl)	90
Volume del reagente R2 (µl)	90
Posizioni decimali (valori predefiniti)	1
Unità (valori predefiniti)	mg/L
Unità (SI)	mg/dl
Fattore di diluizione (misurazione)	1:2 (1/3 del campione utilizzato per estendere l'intervallo di
Linearità	0,5-160 mg/L



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands