

USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, immunocromatografico, per la determinazione rapida e semiquantitativa della Procalcitonina (PCT), nel sangue intero, siero o plasma.

PRINCIPIO DEL METODO

PCT (Procalcitonina) W/S/P utilizza un metodo semiquantitativo rapido su supporto immunocromatografico (card) che impiega campioni di siero, plasma o sangue intero per rilevare la presenza di Procalcitonina attraverso l'interpretazione visuale dello sviluppo di bande colorate sulla membrana immunocromatografica inserita nella card. Anticorpi anti-PCT sono immobilizzati a livello nella regione del test (T). Durante lo sviluppo della reazione, il campione reagisce con gli anticorpi anti-PCT coniugati alle microparticelle colorate e immobilizzate nel pozzetto S del supporto. La miscela migra, quindi, attraverso la membrana per azione capillare e interagisce con i reagenti presenti nella membrana. Qualora si sviluppino soltanto la linea test 1 (T1), la concentrazione di PCT nel campione è da considerarsi compresa tra 0.5 e 2.0 ng/ml. In caso di sviluppo contemporaneo delle linee test 1 e 2 (T1 e T2) la concentrazione di PCT risulterà compresa tra 2.0 e 10.0 ng/ml. Infine, lo sviluppo di tutte e tre le linee test (T1, T2, T3), indica che il livello di PCT è superiore a 10.0ng/ml. Quale controllo procedurale, una banda colorata deve SEMPRE formarsi in corrispondenza della regione C (linea del controllo), ad indicare la corretta esecuzione dell'intera procedura analitica (corretta aggiunta del campione e funzionamento ottimale del supporto di reazione).

SISTEMA REAGENTARIO

Ogni card contiene anticorpi anti-PCT coniugati a particelle di oro colloidale ed anticorpi anti-PCT legati alla membrana immunocromatografica.

CONTENUTO DEL KIT

- Card reattive monouso: supporti di reazione, in sacchetto sigillato
- Tampone di diluizione (buffer)
- Contagocce
- Istruzioni per l'uso

MATERIALE NECESSARIO NON FORNITO NEL KIT

- Provette per prelievo ematico con anticoagulante (EDTA sale potassico o sodico, sodio o litio-eparina, sodio ossalato o sodio citrato)
- Provette per prelievo ematico senza anticoagulante (qualora si utilizzi siero)
- Lancette sterili (solo per sangue del polpastrello)
- Tubi capillari eparinizzati monouso con tettarella
- Centrifuga (per utilizzo di plasma o siero)
- Timer

PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico *in vitro*. Non utilizzare dopo la data di scadenza
- Ciascuna card deve essere mantenuta nel relativo sacchetto sigillato fino al momento dell'uso
- Non mangiare, bere o fumare nell'area di manipolazione dei reagenti e dei campioni
- Non utilizzare i supporti qualora il relativo sacchetto risulti aperto o danneggiato
- Manipolare tutti i campioni come potenzialmente infetti. Osservare tutte le disposizioni di legge in merito.
- Al termine della procedura analitica eliminare i campioni secondo la normativa di sicurezza in vigore.
- Durante tutte le fasi analitiche indossare indumenti protettivi (camicia), guanti monouso e dispositivi di protezione oculare (DP1)
- La temperatura e l'umidità eccessiva possono inficiare i risultati analitici

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Il kit può essere mantenuto in frigorifero o a T.A. (2-30°C.); **non congelare** e non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sul sacchetto sigillato contenente il supporto di reazione.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Può essere utilizzato sangue intero da prelievo, con anticoagulante, o da puntura del polpastrello; è possibile impiegare anche siero o plasma.

Procedura per utilizzo di sangue intero (puntura del polpastrello):

- Far lavare le mani al paziente con acqua calda e sapone e pulire la zona da pungere con tampone imbevuto di disinfettante
- Massaggiare la mano evitando di toccare la zona da pungere, sfregando sul palmo della mano verso il polpastrello del dito medio o anulare
- Pungere la pelle del polpastrello con una lancetta sterile; asciugare la prima goccia di sangue.
- Tenendo la mano con il palmo verso l'alto, comprimere il polpastrello dietro al punto di prelievo, facendo formare un'altra goccia.
- Aspirando il sangue con capillare eparinato graduato, caricare quest'ultimo con 120µl circa di campione, evitando la formazione di bolle d'aria.
- Porre una tettarella in gomma sull'apertura superiore del capillare e, comprimendola dispensare il sangue nel pozzetto S della card.

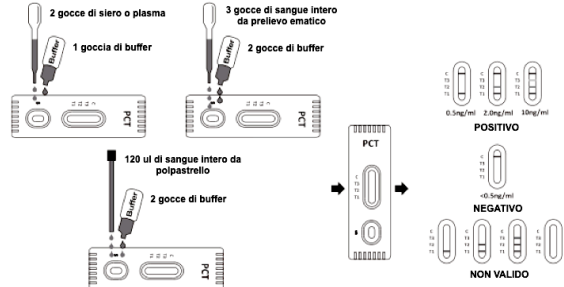
Procedura per utilizzo di siero, plasma o sangue intero da prelievo in provetta

- Separare il siero o il plasma dal coagulo al più presto, per evitare l'emolisi.
- L'analisi dovrebbe essere effettuata immediatamente dopo la preparazione del campione. I campioni non devono essere lasciati a lungo a T.A. Eventualmente, è possibile conservare il siero o il plasma fino a 3 giorni a 2-8°C; per periodi di tempo maggiori, congelare i campioni a -20°C. Il sangue intero da prelievo venoso (con anticoagulante) può essere conservato fino a 2 giorni a 2-8°C (NON CONGELARE I CAMPIONI DI SANGUE INTERO).
- I campioni raccolti previa puntura del polpastrello devono essere analizzati immediatamente
- Prima di effettuare la seduta analitica, portare reagenti e campioni a T.A. I campioni congelati devono essere accuratamente risospesi prima del test: evitare scongelamenti-congelamenti ripetuti.
- Qualora i campioni dovessero essere spediti, dovranno essere confezionati secondo le normative vigenti nel Paese, riguardanti il trasporto di materiale potenzialmente infetto.

PROCEDURA OPERATIVA

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso (15-30°C)

1. Togliere il supporto di reazione dall'involucro di protezione, tagliando il sacchetto lungo il bordo sigillato e porlo su una superficie piana, avendo cura di identificare ciascun supporto: risultati ottimali si ottengono se il supporto di reazione viene utilizzato entro un'ora dall'apertura.
2. **Campioni di siero o plasma:** tenere il contagocce in posizione verticale e trasferire 2 gocce di campione (circa 80µl) nel pozzetto del campione (S) presente nel supporto di reazione; aggiungere una goccia di tampone di diluizione (circa 40µl) nello stesso pozzetto S e far partire il timer. Evitare di introdurre bolle d'aria nel pozzetto del campione. Vedi lo schema riportato.
3. **Campioni di sangue intero (prelievo ematico):** tenere il contagocce in posizione verticale e trasferire 3 gocce di sangue intero (circa 120µl) nel pozzetto del campione (S) presente nel supporto di reazione; aggiungere 2 gocce di tampone di diluizione (circa 80µl) nello stesso pozzetto S e far partire il timer. Evitare di introdurre bolle d'aria nel pozzetto del campione. Vedi lo schema riportato.
4. **Campioni di sangue intero (da tubo capillare):** riempire il tubo stesso e trasferire circa 120µl di sangue intero, proveniente da puntura del polpastrello, nel pozzetto del campione (S); aggiungere quindi 2 gocce di tampone di diluizione (circa 80µl) nello stesso pozzetto e far partire il timer. Vedi lo schema riportato.
5. Attendere la formazione delle linee rosate. Leggere il risultato dopo 5 minuti esatti.
6. Non interpretare mai i risultati oltre 8 minuti.



Nota: la velocità di sviluppo della banda colorata può essere influenzata dalla temperatura ambiente: tanto più quest'ultima è elevata, tanto più rapidamente può svilupparsi la colorazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Facendo riferimento alle tabelle sotto riportate, si potranno ottenere diversi tipi di risultati:

POSITIVO: in aggiunta alla banda del controllo (C), si evidenziano una o più bande colorate nelle zone di reazione positiva (linee T).

Linea Test (T)	Risultato semi-quantitativo	Interpretazione raccomandata
Appare soltanto la linea T1	Concentrazione di PCT tra 0.5-2.0 ng/ml	Risposta infiammatoria sistemica altamente probabile
Appaiono soltanto le linee T1 e T2	Concentrazione di PCT tra 2.0-10.0 ng/ml	Risposta infiammatoria sistemica associata con infezione batterica
Appaiono contemporaneamente le linee T1, T2 e T3	Concentrazione di PCT superiore a 10.0 ng/ml	Progressione verso una severa sepsi o verso uno shock settico

NEGATIVO: si sviluppa soltanto la banda colorata nella zona di controllo (C); non appaiono linee T (zone di reazione positive): la concentrazione di PCT è inferiore al limite di sensibilità del metodo (0.5 ng/ml)

Linea Test (T)	Risultato semi-quantitativo	Interpretazione raccomandata
Non appare alcuna linea colorata	La concentrazione PCT è minore di 0.5 ng/ml	Non evidenza di fenomeni infiammatori: comunque sono possibili situazioni infiammatorie o infettive locali a basso rischio di progressione verso risposte infiammatorie sistemiche

NON VALIDO (INDETERMINATO-RIPETERE): se non si evidenziano distinte bande colorate, sia nella zona del controllo che nella zona di reazione positiva, il test è da considerarsi "non valido": si raccomanda di ripetere il test. Qualora il problema tenda a ripetersi sarà necessario contattare il distributore locale.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il controllo interno della procedura è incluso sempre nel metodo stesso: lo sviluppo di una linea rossa nella regione del controllo (C) rappresenta il controllo procedurale positivo, a conferma di una corretta esecuzione della metodica.

Nel kit non sono compresi controlli di qualità positivo e negativo

Per il Controllo di Qualità Interno (VIQ) ed Esterno (VEQ) fare riferimento alla specifiche applicative del fornitore certificato del materiale.

LIMITAZIONI DEL METODO

1. PCT (Procalcitonina) W/S/P è stato formulato esclusivamente per determinazioni *in vitro*
2. La metodica descritta permette, esclusivamente, una valutazione semiquantitativa della PCT, in campioni di siero, plasma o sangue intero e come tutti i test di laboratorio, l'interpretazione ai fini della diagnosi deve essere supportata da tutte le altre indagini necessarie ed informazioni cliniche
3. Nel caso di risultato negativo, ma persistenza di sintomatologia clinicamente correlabile ad una sindrome infiammatoria o infettiva, è consigliabile un ulteriore approfondimento diagnostico: comunque, un risultato negativo del test non esclude una patologia infiammatoria o infettiva in atto
4. Valori di PCT prossimi al livello di cut-off della linea T1 (T1: 0.5ng/ml), T2 (T2: 2.0ng/ml), e T3 (T3: 10.0ng/ml) dovrebbero essere interpretati con cautela poiché, come per i test quantitativi in genere, possono ottenersi possibili piccoli scostamenti rispetto al valore reale. Inoltre, una linea T con intensità leggermente superiore alla linea T3 può anche rappresentare un valore in concentrazione lievemente al di sotto di 10.0ng/ml. Tale fenomeno può verificarsi anche per concentrazioni prossime a 2.0ng/ml e 0.5ng/ml: in tali situazioni si raccomanda di ripetere il test o eseguire direttamente una procedura quantitativa.

VALORI ATTESI

Il presente metodo è stato correlato con kit FEIA (Fluorescence Enzyme ImmunoAssay) certificato regolarmente in commercio ottenendo, quale risultato, una accuratezza complessiva pari al 98%.

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità e Specificità

PCT (Procalcitonina) W/S/P è stato valutato per correlazione con kit FEIA certificato in commercio, utilizzando campioni clinici. I risultati mostrano una sensibilità >99.9% e una specificità del 99.5% relativamente al test EIA commerciale testato.

METODO	Risultato	FEIA			Totale	
		Negativi 0-0.5 ng/ml	Positivi 0.5-2.0 ng/ml	Positivi 2.0-10 ng/ml		≥10 ng/ml
PCT (Procalcitonina) W/S/P	0-0.5ng/ml	99	1	0	100	
	0.5-2.0ng/ml	1	26	1	28	
	2.0-10ng/ml	0	0	23	23	
	≥10ng/ml	0	0	0	8	
	Totale	100	27	24	8	159
Accuratezza relativa %		99.0%	96.3%	95.8%	100%	98.1%

Sensibilità Relativa: (26+23+8)/(27+24+8)=96.6% (CI*: 88.3%-99.6%)

Specificità relativa: 99/(99+1)=99.0% (CI*: 94.6%-99.9%)

Accuratezza Relativa (26+23+8+99)/(27+24+8+100)=98.1% (CI*: 94.6%-99.6%)

*95% Intervallo di confidenza

PRECISIONE**Intrasaggio**

La precisione intrasaggio è stata determinata utilizzando repliche di 10 test in 3 distinte sedute analitiche per ciascuno di tre lotti utilizzando campioni a concentrazioni di 0 ng/ml, 0,5 ng/ml, 2,0 ng/ml, 10 ng/ml e 100 ng/ml di PCT: un negativo, un basso positivo, un medio positivo ed un alto positivo. I campioni sono stati correttamente identificati in misura >99,9% delle determinazioni.

Intersaggio

La precisione intersaggio è stata determinata utilizzando i medesimi 5 campioni (a concentrazioni di 0 ng/ml, 0,5 ng/ml, 2,0 ng/ml, 10 ng/ml e 100 ng/ml di PCT) mediante analisi di 3 sedute analitiche indipendenti. Tre distinti lotti di PCT (Procalcitonina) W/S/P sono stati testati, utilizzando i suddetti campioni. I campioni con risultato, rispettivamente, negativo, basso positivo, medio positivo ed alto positivo sono stati correttamente identificati in misura >99,9% delle determinazioni.

SOSTANZE POTENZIALMENTE INTERFERENTI

Le seguenti sostanze sono state aggiunte a campioni testati per PCT:

Albumina umana: 20 mg/mL Bilirubina: 6 mg/mL Emoglobina: 10 mg/ml
 Colesterolo: 5 mg/ml Trigliceridi: 15 mg/mL

Nessuna delle suddette sostanze, alla concentrazione riportata, ha interferito con il test.












CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE

La Procalcitonina (PCT) è un ormone peptidico secreto principalmente dalle cellule C della tiroide e da alcune cellule endocrine del polmone^{1,2}. In condizioni di espressione fisiologiche, la PCT viene immediatamente scissa in tre frammenti specifici, un residuo N-terminale, calcitonina e katalcalcina, mentre concentrazioni di procalcitonina nativa integra (*unprocessed*) particolarmente aumentate si osservano in seguito a infezioni batteriche e shock da trauma^{3,4}.

BIBLIOGRAFIA

- Linscheid P, Seboed, Nylen ES, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in Parenchymal cells: a novel Product of human adipose tissue [J] . Endocrinology , 2003 , 144 (12) :5578-5584
- Broad PM, Symes AJ, Thakker RV et al. Structure and methylation of the human calcitonin alpha-CGRP gene. Nucleic Acids Res 1989; 17:6999-7011
- Nakamura A, Wada H, Ikejiri M, et al. Efficacy of procalcitonin in the early diagnosis of bacterial infections in a critical care unit [J] . Shock , 2009 , 31(6) : 586 - 591
- Tavares E, Miano FJ. Immunoneutralization of the amino procalcitonin Peptide of procalcitonin Protects rats from lethal endotoxaemia: neuroendocrine and systemic studies [J] . Clin Sci , 2010 , 119(12) : 519-534

Indice dei Simboli

	Attenzione, seguire le istruzioni per l'uso		Tests per kit		Rappresentante Autorizzato
	Per uso esclusivo "in vitro"		Utilizzare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero di Lotto		N. Catalogo #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				Rischio Biologico

Codici di Riordino:

PCT3250 PCT (Procalcitonina) W/S/P

10 test



Bio Plastic Sas - 00100 Roma