



Istruzioni per l'uso

suPARnostic® Quick Triage

Recettore dell'attivatore del plasminogeno urochinasi
solubile

Dispositivo di test

REF A003



suPARnostic e il logo

ViroGates sono marchi registrati di

ViroGates A/S Danimarca.

©2008 ViroGates.

Tutti i diritti riservati.



ViroGates A/S

Banevænget 13

Birkerød 3460, Danimarca

Tel: +45 2113 1336

Skype: Virogates

www.virogates.com



Questo prodotto è protetto da uno o più brevetti statunitensi, europei e/o esteri.

Per ulteriori istruzioni e istruzioni nella propria lingua locale, visitare www.virogates.com. In alternativa, per istruzioni nella propria lingua contattare il proprio distributore locale.

USO PREVISTO

PER USO PROFESSIONALE

suPARnostic® Quick Triage viene usato per la determinazione del recettore dell'attivatore del plasminogeno urochinasi solubile (suPAR) nel plasma EDTA umano in ng/ml.

L'interpretazione dei risultati deve tenere conto della storia clinica del paziente e dei risultati di altri test diagnostici, se disponibili.

RIEPILOGO DI suPAR COME MARCATORE DELLA PROGnosi DI MALATTIA

suPAR è la forma solubile del recettore dell'attivatore del plasminogeno urochinasi (uPAR). La quantità di suPAR misura l'attivazione immunitaria e l'infiammazione. suPAR è un biomarcatore aspecifico che aumenta in presenza di malattia. Più alto è il livello di suPAR, maggiore è il rischio di progressione della malattia e peggiore è la prognosi del paziente.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA DI TEST

suPARnostic® Quick Triage è un immunodosaggio a flusso laterale (LFIA). Il dispositivo utilizza anticorpi murini coniugati con oro e anticorpi di ratto monoclonali contro il suPAR umano per fornire una misura quantitativa del livello di suPAR plasmatico. Il plasma con EDTA o eparina viene miscelato con il running buffer e viene applicato al dispositivo suPARnostic® Quick Triage. Durante i 20 minuti di incubazione, il campione di plasma reagisce con gli anticorpi anti-suPAR coniugati con oro e migra attraverso la membrana di nitrocellulosa. Il coniugato con oro contenente il campione suPAR viene legato da un anticorpo di cattura suPAR sulla linea di test, mentre l'anticorpo legato non suPAR viene catturato dalla linea di controllo (anticorpo anti-murino).

suPARnostic® Quick Triage viene calibrato rispetto a un controllo interno in quanto non è stato definito uno standard internazionale.

REAGENTI E MATERIALI

Reagenti forniti

Questo kit contiene reagenti sufficienti per eseguire fino a 25 dispositivi di test.

1. Dispositivi a flusso laterale, ciascuno in busta di alluminio con sacchetto di essiccante.
Quantità: 25 dispositivi. Preparazione: pronto all'uso.
2. Running buffer del test, tampone PBS, pH 7,2, con additivi proprietari e 0,05% di Bronidox® come conservante.
Quantità: 3,5 ml. Preparazione: pronto all'uso.
3. Istruzioni per l'uso.
4. Istruzioni per l'uso del suPARnostic® Quick Test Lettore senza PC.

Materiale necessario ma non fornito

- Pipetta regolabile con puntali, 10 µl - 100 µl.
- Orologio, timer o cronometro.
- Guanti monouso.
- suPARnostic® Quick Test Reader (Lateral Flow Reader) RIF – A004
- Provetta Eppendorf o un'altra provetta di miscelazione.

FORMAZIONE RICHIESTA

Per utilizzare il dispositivo suPARnostic® Quick Triage è necessario che l'utente abbia ricevuto una formazione completa su come utilizzare il Quick Test Reader con e senza PC.

PRECAUZIONI E RACCOMANDAZIONI PER I REAGENTI

- Per uso professionale.
- Non utilizzare i componenti del kit oltre la data di scadenza del kit indicata.
- Non miscelare reagenti tratti da lotti di kit diversi.
- Non congelare nessuno dei componenti del kit.
- Non aspirare con la bocca né ingerire nessuno dei reagenti.
- Non fumare, mangiare, bere durante l'esecuzione del test né in aree in cui vengono maneggiati i campioni o i reagenti.
- Non miscelare campioni di plasma ottenuti da pazienti diversi o da prelievi di sangue diversi dallo stesso paziente.
- I campioni umani possono essere infettati con agenti infettivi. Non ingerire, non esporre a ferite aperte, né respirare gli aerosol. Indossare guanti protettivi e smaltire correttamente i campioni biologici.
- Non utilizzare un dispositivo se la busta è danneggiata o aperta in qualche modo.
- Tenere presente la possibilità di diluizione del suPAR in caso di trasfusione, infusione o simili.

CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE

I dispositivi devono essere conservati nelle buste in alluminio sigillate.

Conservare i componenti del kit a 18-24 °C. I dispositivi possono essere usati fino alla data stampata sulla busta. Il running buffer può essere usato fino alla data stampata sul flacone. Chiudere bene il tappo dopo ogni utilizzo.

IMPORTANTE: I dispositivi devono essere utilizzati subito dopo l'apertura dalla busta. Non possono essere conservati per un uso successivo.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Tipo di campione

Requisito del campione

Campione di plasma

10 µl di plasma

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Preparazione dei campioni di plasma;

1. Il sangue intero viene aspirato in una provetta da centrifuga contenente EDTA o anticoagulante eparinico.
2. Centrifugare il sangue a 3000 giri per 1-10 minuti.
3. Trasferire e conservare i campioni di plasma in provette separate e marcate.
4. Datare e identificare ogni campione.
Per una conservazione a lungo termine, mantenere a -20 °C. Evitare cicli di congelamento/scongelo.

I campioni grossolanamente emolizzati, lipemici o microbiologicamente contaminati non devono essere utilizzati. I campioni con livelli anormalmente elevati di emoglobina o bilirubina possono interferire con le prestazioni e la sensibilità del test.

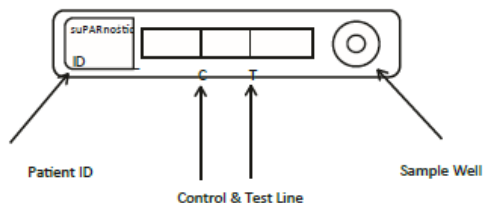
PROCEDURA DI TEST

suPARnostic® Quick Triage (codice n. A003)

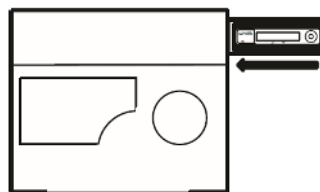
Procedura

1. Trasferire 100 µl del running buffer del test in una provetta vuota.
2. Trasferire 10 µl del campione di plasma nella provetta contenente 100 µl del running buffer del test.
3. Impostare la pipetta su 60 µl e miscelare pipettando il contenuto della provetta quattro volte su e giù nel puntale della pipetta. Preferibilmente, vorticare il campione.
4. Trasferire 60 µl di campione diluito nel pozzetto del dispositivo suPARnostic® Quick Triage.
5. Incubare per 20 minuti e inserire il dispositivo nel lettore prima della misurazione. Premere "Start" (Avvio) per leggere il dispositivo.

DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO



INFORMAZIONI SUL LETTORE suPARnostic® QUICK



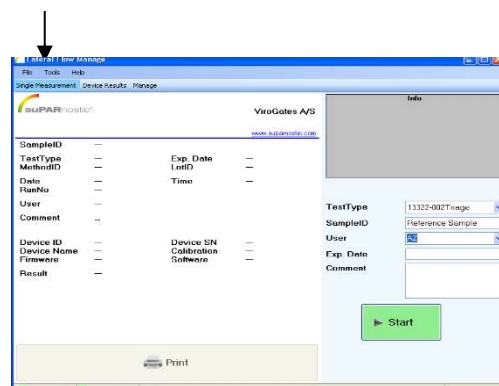
TEST READER

Aprire il vassoio sul lato destro del lettore. Inserire il dispositivo con l'ID del paziente sulla sinistra, il più possibile vicino al lettore, e il pozzetto del campione sulla destra. È importante posizionare il dispositivo correttamente nel lettore.

ESECUZIONE DI UN TEST

Il software LF consente all'utente di misurare un dispositivo e ottenere suPAR come misura quantitativa basata su una curva di calibrazione. Inoltre, l'utente può selezionare o inserire un ID paziente, un ID utente, informazioni sulla data di scadenza e un commento.

1. Fare clic sulla scheda "Single Measurement" (Misurazione singola). Il software appare come mostrato di seguito:



2. Assicurarsi che il lettore sia collegato e che il PC e il software siano in funzione.

3. Togliere il dispositivo dalla busta.
4. Aggiungere il campione al dispositivo come descritto nella procedura di test.
5. Attendere 20 minuti affinché termini l'incubazione.
6. Inserire il dispositivo con l'ID del paziente sulla sinistra, il più possibile vicino al lettore, e il pozzetto del campione sulla destra, al termine dell'incubazione. Premere "Start" (Avvio) per avviare la misurazione del dispositivo.
7. Il risultato suPAR verrà visualizzato in ng/ml.
8. Il valore suPAR deve essere compreso nell'intervallo 2-15 ng/ml. Se il risultato non rientra nell'intervallo, verrà visualizzato come < 2,0 ng/ml o >15 ng/ml e il valore non potrà essere considerato accurato e preciso. Se il display visualizza INVALID (Non valido), significa che durante la misurazione si è verificato un errore. Ripetere l'analisi del campione e se il risultato è nuovamente INVALID, consultare le istruzioni dettagliate su Internet oppure richiedere assistenza contattando ViroGates al numero +45 2113 1336 o tramite e-mail all'indirizzo info@virogates.com

CONTROLLO QUALITÀ

suPARnostic® Quick Triage utilizza la linea C come controllo di qualità interno.

Il risultato è difettoso se dopo un'esecuzione altrimenti riuscita del campione di plasma sul dispositivo non compare la linea C.

Quando viene utilizzato con il lettore suPARnostic® Quick Test Reader, il dispositivo Quick Triage visualizza automaticamente se si è verificato un errore. Il lettore dispone inoltre di un controllo di qualità interno che viene eseguito ogni volta che il lettore viene acceso.

CALCOLO DEI RISULTATI

Il lettore suPARnostic® Quick Test Reader esegue automaticamente il calcolo dei livelli suPAR.

Per ottenere i valori corretti, il dispositivo suPARnostic® Quick Triage deve essere utilizzato con il lettore. L'utente non può

valutare i risultati ispezionando visivamente il dispositivo Quick Triage.

Il lettore scansiona la linea di test e di controllo e determina l'intensità delle linee. Il calcolo per stimare il valore suPAR si basa sulla linea di test. Per il calcolo, il lettore suPARnostic® Quick Test Reader utilizza un metodo specifico per ogni lotto di dispositivi di Quick Triage. Il metodo specifico per il lotto viene caricato nel lettore quando viene utilizzato un lotto nuovo. Il metodo contiene una curva di calibrazione che il lettore utilizza per convertire l'intensità della linea T in ng/ml suPAR.

Il calcolo matematico viene effettuato con una curva lineare basata su 6 rampe di riferimento con concentrazioni note e un campione di solo tampone.

LIMITAZIONI DEL TEST

La diagnosi clinica non deve basarsi solo sul risultato del test suPARnostic® Quick Triage. L'interpretazione dei risultati deve tenere conto della storia clinica del paziente e dei risultati di test diagnostici, se disponibili.

Le sostanze elencate di seguito sono state testate per verificare la presenza di interferenze con il suPARnostic® Quick Triage. Nessuna delle sostanze testate ha interferito con l'esecuzione del test.

Sostanza	Concentrazione mmol/ L
Bilirubina	0,10 - 0,50
Emoglobina	0,00 - 0,94
Trigliceridi	0,00 - 23

Fattori reumatoidi: Sono stati analizzati i campioni ottenuti da 16 pazienti con fattore reumatoide aumentato nelle concentrazioni (0-1600 kIU/L). Non abbiamo osservato alcuna correlazione specifica con i fattori reumatoidi (R2=0,33).

VALORI ATTESI

Tutti gli individui hanno un livello di suPAR misurabile; nei donatori di sangue sani (N=9305) il livello di suPAR mediano per gli uomini di età compresa tra i 18 e i 65 anni è di 2,22 ng/ml (intervallo 25-75%, da 1,76 a 2,90 ng/ml)¹, mentre per le donne di età compresa tra i 18 e i 65 anni è di 2,56 ng/ml (intervallo 25-

75%, da 2,05 a 3,23 ng/ml)¹. Nei pazienti che si recano al pronto soccorso, il livello di suPAR è di circa 3-6 ng/ml^{2,3,6}, mentre nei pazienti con malattia grave e insufficienza d'organo, il livello di suPAR è spesso a due cifre^{4,5}. Più alto è il livello di suPAR, maggiore è il rischio di progressione della malattia e peggiore è la prognosi.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Limite del bianco (Limit of Blank - LOB)

Il limite del bianco mostra la variazione di un campione bianco (solo tampone). Valore massimo ottenuto da 3 validazioni di lotti.

Limite di rivelazione (Limit of Detection - LOD)

Il limite di rivelazione è la rivelazione minima possibile di suPAR che non sia un campione bianco. Valore massimo ottenuto da 3 validazioni di lotti.

Limite di quantificazione (Limit of Quantification - LOQ)

Il limite di quantificazione è impostato in modo da essere il campione con la concentrazione minore nell'intervallo 0-2 ng/ml con un coefficiente di variazione CV% non superiore al 25%. Valore massimo ottenuto da 3 validazioni di lotti.

	LOB	LOD	LOQ
X (NG/ML) =	0,4	1,0	2,0

Imprecisione e ripetibilità

I risultati intra-seriali sono stimati su 5 misurazioni in un giorno e forniscono Media, Deviazione standard e CV%. La variazione inter-seriale è tra 5 giorni. Di seguito viene riportato il CV% massimo tra 3 lotti.

	CAMPIONE 1	CAMPIONE 2	CAMPIONE 3	CAMPIONE 4
X (NG/ML)=	2,0	4,0	7,4	14,0
CV (%) INTRA-SAGGIO	22%	23%	12%	10%
CV (%) INTER-SAGGIO	29%	20%	18%	18%

PRECISIONE (CONFRONTO DEI METODI)

È stata eseguita la correlazione tra la regressione di Passing-Bablok e l'analisi suPARnostic® ELISA per stimare la capacità del Quick Triage di quantificare suPAR nei campioni dei pazienti.

Risultati

Tipo di campione	N. di copie	Pendenza	Intercetta sull'asse Y	Correlazione Passing-Bablok	Valore intervallo
Plasma	60	1,13%	-0,39	0,893	1,3-18,7

X = suPARnostic ELISA Y = suPARnostic Quick Triage

GESTIONE DEI RIFIUTI

Smaltire i reagenti e i rifiuti inutilizzati in conformità con le normative nazionali, federali, statali e locali.

Per uso professionale

			
N. catalogo	N. LOTTO (N. lotto)	Consultare le istruzioni per l'uso	Limiti di temperatura
			
Non riutilizzare	Non utilizzare se la confezione è danneggiata o aperta	Contenuto sufficiente per <n> test	Utilizzare entro

BIBLIOGRAFIA

1. Haastrup E, Grau K, Eugen-Olsen J, Thorball C, Kessing LV, Ullum H: Soluble urokinase plasminogen activator re-ceptor as a marker for use of antidepressants. PLoS One 2014, e110555.
2. Raggam RB, Wagner J, Pruller F, Grisold A, Leitner E, Zollner-Schwetz I, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts mortality in patients with systemic inflammatory response syndrome. J Intern Med 2014, 12238.:10.
3. Haupt TH, Petersen J, Ellekilde G, Klausen HH, Thorball CW, Eugen-Olsen J, et al: Plasma suPAR levels are associated with mortality, admission time, and Charlson Comorbidity Index in the acutely admitted medical patient: a prospective observational study. Crit Care 2012, 16:R130.
4. Koch A, Zimmermann HW, Gassler N, Jochum C, Weiskirchen R, Bruensing J, et al.: Clinical relevance and cellular source of elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in acute liver failure. Liver Int 2014, 10
5. Donadello K, Scolletta S, Taccone FS, Covajes C, Santonocito C, Cortes DO, et al: Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor as a prognostic biomarker in critically ill patients. J Crit Care 2014, 29:144-149.
6. Rasmussen LJH, Ladelund S, Haupt TH, Ellekilde GE, Eugen-Olsen J, Andersen O. Combining National Early Warning Score With Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Improves Risk Prediction in Acute Medical Patients: A Registry-Based Cohort Study. Crit Care Med. 2018 Dec;46(12):1961-1968.