

CRP-Latex

PRESENTACION			
REF	2410005	CRP-Latex	50 Tests
	2410010	CRP-Latex	100 Tests
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>			

PCR-Latex

Determinación de la proteína C-reactiva

PRUEBA EN PORTA

FUNDAMENTO

El PCR-Latex Test es una prueba rápida de aglutinación en porta basada en la técnica de Singer¹, para la detección directa y la semicuantificación de la proteína C-reactiva (PCR) en suero. La determinación se efectúa ensayando una suspensión de látex recubierto con anticuerpos anti-PCR, frente a los sueros problema. La presencia de aglutinación es indicativa de un aumento del nivel de PCR por encima del límite superior del intervalo de referencia de las muestras ensayadas.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

- R** **Reactivo PCR-Látex.** Suspensión estabilizada y tamponada de partículas de látex recubiertas con anticuerpos específicos anti-PCR humana. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.
- CONTROL+** Suero humano con una concentración de PCR > 15 mg/L. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.
- CONTROL-** Suero animal, con una concentración máxima de 1 mg/L de PCR humana. Contiene 0,95 g/L de azida sódica.

Precauciones: En la preparación de reactivos de origen humano, intervienen solamente materiales que, frente a técnicas probadas, han mostrado su negatividad frente a anticuerpos anti-HIV 1+2, anticuerpos anti-HCV y HBsAg. Tratarlos, no obstante, como si fueran potencialmente infecciosos.

Aviso: Los reactivos de este kit contienen azida sódica. Evitar el contacto con la piel y mucosas.

CONTENIDO DEL ENVASE

- REF** 2410005, kit 50 tests.
1 vial Reactivo PCR-Látex, 1x1 mL Control positivo, 1x1 mL Control negativo, 3 Tarjetas visualizadoras y 1x50 palillos desechables.
- REF** 2410010, kit 100 tests.
2 viales Reactivo PCR-Látex, 1x1 mL Control positivo, 1x1 mL Control negativo, 3 Tarjetas visualizadoras y 2x50 palillos desechables.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. No congelar los componentes del kit ya que podría verse afectada la funcionalidad del test. El Reactivo y los Controles son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

El Reactivo y los Controles están listos para su uso.

MUESTRAS

Suero claro, reciente.
Una vez separado, el suero puede guardarse a 2-8°C durante una semana antes del ensayo, o por un período mayor a -20°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Pipetas de volumen variable.
- Solución salina (NaCl 0,9%, para técnica semi-cuantitativa).
- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 100 r.p.m.
- Cronómetro.

TECNICA

I. Prueba cualitativa

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente (Nota 1).
2. Agitar el Reactivo de látex con suavidad. Aspirar y vaciar varias veces el cuentagotas para asegurar su homogeneidad antes del ensayo.
3. Depositar 1 gota (50 µL) de suero problema en uno de los círculos de la tarjeta visualizadora. En círculos adicionales, depositar 1 gota de control positivo y 1 gota de control negativo.
4. Añadir a cada círculo 1 gota del Reactivo PCR-Latex, próxima a analizar.
5. Efectuar la mezcla con ayuda de un palillo desechable, extendiéndola de forma que cubra por completo la superficie interior de cada anillo. Emplear palillos distintos para cada mezcla.
6. Mover la tarjeta con agitador rotatorio (100 r.p.m.) durante **2 minutos** (Nota 2).
7. Observar de inmediato con la ayuda de una luz adecuada, la aparición de cualquier signo de aglutinación.

Lectura

Reacción negativa: Suspensión uniforme sin cambio visible alguno, tal como se presenta en el control negativo (Nota 3).

Reacción positiva: Aglutinación débil o intensa, fácilmente visible macroscópicamente (Nota 4).

II. Prueba semi-cuantitativa

1. Diluir la muestra en NaCl 9 g/L siguiendo la pauta de diluciones dobles tal como se muestra en el siguiente cuadro:

Dilución	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Muestra (µL)	100				
NaCl 9 g/L (µL)	100	100	100	100	100
Transferir (µL)		100	100	100	100
PCR (mg/L) en muestra sin diluir	12	24	48	96	192

2. Ensayar cada dilución según el procedimiento descrito en la Prueba Cualitativa.

NOTAS

Lectura

Como en la Prueba cualitativa. El título de la muestra corresponde a la máxima dilución que presenta reactividad. La dilución siguiente debe ser negativa.

En el caso de resultar positiva la dilución más alta ensayada, repetir el ensayo comenzando con una dilución inicial al 1:16.

Como diluyente de esta nueva serie de dobles diluciones utilizar el control negativo diluido al 1:50 con NaCl 9 g/L, en vez de NaCl 9 g/L empleado anteriormente.

La tasa aproximada (mg/L) de PCR presente en la muestra puede obtenerse multiplicando la unidad mínima detectable (sensibilidad analítica) por el título de la última dilución positiva.

p.ej. Título 1/16

Concentración de PCR = 6 x 16 = 96 mg/L

CONTROL DE CALIDAD

Incluir diariamente controles positivo y negativo para confirmar el correcto funcionamiento del reactivo, siguiendo los pasos descritos para la Prueba cualitativa.

El control positivo debe producir una clara aglutinación. Si no se obtiene el resultado esperado, no utilice el kit.

VALORES ESPERADOS²⁻⁵

Mientras en las personas sanas la concentración de proteína C-reactiva en el suero es inferior a 5 mg/L, durante algunas enfermedades, dentro de las 4-8 horas subsiguientes a un episodio agudo, estos valores aumentan y la concentración de PCR en suero puede llegar hasta 500 mg/L. Dado que un nivel elevado de PCR siempre está ligado a cambios patológicos, la determinación de la PCR tiene un gran valor para la confirmación del diagnóstico, el tratamiento y el control de la evolución de las enfermedades inflamatorias.

SIGNIFICADO CLINICO⁶⁻⁸

La proteína C-reactiva es una proteína de fase aguda presente normalmente en el suero, que aumenta significativamente en una gran diversidad de lesiones tisulares, infecciones bacterianas y víricas, inflamaciones, así como en las neoplasias malignas. La PCR contribuye a la defensa inmunológica inespecífica de varias formas, entre ellas, mediante la activación del complemento y la aceleración de la fagocitosis.

En el diagnóstico clínico, el resultado de la determinación de la PCR debe ser considerado siempre en relación a los hallazgos clínicos y otras pruebas de laboratorio.

CARACTERISTICAS FUNCIONALES

- La unidad mínima detectable (sensibilidad analítica) es de aproximadamente 6 mg/L (5-10 mg/L), frente al Material de Referencia CRM 470/RPPHS.
- La especificidad diagnóstica es del 96,2%
- Efecto prozona: No se observa hasta concentraciones de 160 mg/L.
- Los resultados obtenidos con este reactivo no muestran diferencias significativas al ser comparados con un reactivo de referencia. Los datos analíticos del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Hemoglobina (<10 g/L), bilirrubina (<20 mg/dL) y lipemia (<10 g/L) no interfieren con el ensayo. Los factores reumatoideos (100 UI/mL) interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁹.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La presencia de factores reumatoideos en la muestra problema puede dar origen a falsas positividades.
- Concentraciones marcadamente elevadas de PCR pueden dar lugar a aglutinaciones débiles o negativas (efecto prozona).

1. La sensibilidad del ensayo puede reducirse a temperaturas bajas. Los mejores resultados se obtienen trabajando entre 15 y 25°C.
2. Retrasos en las lecturas pueden ocasionar una sobrevaloración de la tasa de PCR presente.
3. Cuando el contenido de PCR en el suero es muy elevado, pueden darse falsas negatividades en muestras sin diluir. Puede repetirse el ensayo utilizando un volumen de suero de 10 µL. En caso de positividad titular de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente.
4. La intensidad de la aglutinación no es indicativa de la concentración de PCR en las muestras ensayadas.

CAUSAS DE ERROR

- La contaminación bacteriana de controles y muestras, así como la congelación y descongelación del reactivo, son causas generales de resultados positivos falsos.
- Trazas residuales de detergentes en las tarjetas visualizadoras pueden ocasionar asimismo falsas positividades. Lavar las tarjetas bajo el grifo hasta que se hayan eliminado todos los residuos y enjuagarlas con agua destilada. Secar al aire, evitando el empleo de solventes orgánicos puesto que modifican el acabado especial de las placas.
- El Reactivo PCR-Latex no debe utilizarse con posterioridad a su fecha de caducidad, puesto que un almacenamiento más prolongado puede afectar su sensibilidad.

REFERENCIAS

1. Singer, J.M. y Plotz, C.M. Am. J. Med. 21: 888 (1956).
2. Ziegenhagen, G. y Drahovsky, D. Med. Klin. 78: 24 (1983).
3. Dixon, J.S. et al. Scand. J. Rheum. 13 : 39 (1984).
4. Kind, C.R. y Pepys, M.B. Int. Med. 5: 112 (1984).
5. Hanson, L.A. y Wadsworth, Ch. Laboratoriumsblätter. 29: 58 (1979).
6. Tillet, W.S. y Francis, T. J. Exp. Med. 52: 561 (1930).
7. Pepys, M.B. Lancet. i: 653 (1981).
8. Pepys, M.B. y Baltz, M.L. Adv. Immunol. 34: 141 (1983).
9. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).