CRP-Látex. Aglutinación en porta
Determinación cualitativa de *Proteína C-Reactiva (PCR)*
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
Conservar a 2-8ºC
REF: KCRP-100 (100 tests): 5mL CRP latex + 1mL Control (+) + 1mL control (–)
REF: KCRP-050 (50 tests): 2.5mL CRP latex + 1mL Control (+) + 1mL control (–)
REF: KCRPV-100: 5mL CRP latex
REF: KCRPV-50: 2.5mL CRP latex

CRP-Látex

CE

PRINCIPIO DEL METODO
La PCR-Látex es una técnica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de PCR en suero humano. Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-PCR humana son aglutinadas por moléculas de PCR presentes en la muestra del paciente.

SIGNIFICADO CLÍNICO
La Proteína C-reactiva es una proteína de fase aguda, presente en el suero de pacientes sanos, la cual puede incrementarse significativamente en la mayoría de procesos infecciosos bacterianos y virales, tejidos dañados, inflamación y neoplasias malignas. El incremento de concentración de esta proteína se produce después de unas horas de desarrollarse la inflamación pudiendo alcanzar niveles de 300 mg/L en 12-24 horas.

REACTIVOS

Látex	Suspensión de partículas de látex cubiertas de IgG de cabra anti-PCR humana, pH, 8,2. Conservante.
Control + Tapón rojo	Suero humano con una concentración de PCR > 20 mg/L. Conservante.
Control - Tapón azul	Suero animal. Conservante.

PRECAUCIONES
Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACIÓN
La sensibilidad del reactivo de látex está estandarizada frente el Material de Referencia ERM-DA 474/IFCC.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD
Todos los componentes del kit están listos para el uso, y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8ºC, y se evita la contaminación durante su uso. No congelar: la congelación de los reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos.
Mezclar los reactivos suavemente antes de usar.
Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia .de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL
- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
- Agitador vortex.
- Pipetas de 50 µL.

MUESTRAS
Suero fresco. Estable 7 días a 2-8ºC o 3 meses a -20ºC.
Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba.
No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO
Método cualitativo
1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 µL de la muestra (Nota 1) a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.
3. Mezclar el reactivo de PCR- látex vigorosamente o con el agitador vortex antes de usar. Depositar una gota (50 µL) junto a cada una de las gotas anteriores.
4. Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.
5. Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 80 – 100 r.p.m. y agitar durante 2 minutos. El exceso de tiempo puede originar la aparición de falsos positivos.

Método semicuantitativo
1. Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.
2. Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.

LECTURA E INTERPRETACIÓN
Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. La presencia de aglutinación indica una concentración de PCR igual o superior a 6 mg/L (Nota 2 y 3).
En el método semicuantitativo, se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

CÁLCULOS
La concentración aproximada de PCR en la muestra del paciente se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

6 x Título de PCR = mg/L

CONTROL DE CALIDAD
Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo de látex, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados.
Todo resultado distinto al resultado que da el control negativo, se considerará como positivo.

VALORES DE REFERENCIA
Hasta 6 mg/L. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO
1. Sensibilidad analítica: 6 (5-10) mg/L, en las condiciones descritas en el ensayo.
2. Efecto prozona: No se observa efecto prozona hasta valores de 1600 mg/L.(Nota 1).
3. Sensibilidad diagnóstica: 95,6 %.
4. Especificidad diagnóstica: 96,2%.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y los lípidos (10 g/L) no interfieren. Factores reumatoides (100 UI/mL), interfieren. Otras sustancias pueden interferir[7].

NOTAS
1. Una concentración muy elevada de PCR en la muestra del paciente puede dar lugar a un resultado falsamente negativo debido al efecto prozona. Se recomienda re-ensayar la muestra utilizando un volumen de 20 µL.
2. La intensidad de la aglutinación no es indicativa de la concentración de PCR en las muestras ensayadas.
3. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 196-201.
2. M.M. Pepys. The Lancet 1981; March 21: 653 – 656.
3. Chetana Vaishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 – 144.
4. Yoshitsugy Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 – 27.
5. Yamamoto S et al. Veterinary Immunology and Immunopathology 1993; 36: 257 – 264.
6. Charles Wadsworth et al. Clinica Chimica Acta; 1984: 138: 309 – 318.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,126 7º 28006 MADRID (SPAIN)

PCR-Latex. Slide agglutination
Qualitative Determination of C-Reactive Protein (CRP)
Only for *in vitro* use in clinical laboratory
Store at 2-8ºC
REF: KCRP-100 (100 tests): 5mL PCR latex + 1mL Control (+) + 1mL control (–)
REF: KCRP-050 (50 tests): 2.5mL PCR latex + 1mL Control (+) + 1mL control (–)
REF: KCRPV-100: 5mL PCR latex
REF: KCRPV-50: 2.5mL PCR latex

PCRLatex

CE

PRINCIPLE OF THE METHOD
The CRP-latex is a slide agglutination test for the qualitative and semi-quantitative detection of C- Reactive Protein (CRP) in human serum.
Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP are agglutinated when mixed with samples containing CRP.

CLINICAL SIGNIFICANCE
CRP is an acute-phase protein present in normal serum, which increases significantly after most forms of tissue injuries, bacterial and virus infections, inflammation and malignant neoplasia.
During tissue necrosis and inflammation resulting from microbial infections, the CRP concentration can rise up to 300 mg/L in 12-24 hours.

REAGENTS

Latex	Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP, pH, 8.2. Preservative.
Control + Red cap	Human serum with a CRP concentration > 20 mg/L. Preservative.
Control - Blue cap	Animal serum. Preservative.

PRECAUTIONS

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

The CRP-latex sensitivity is calibrated to the Reference Material ERM-DA 474/IFCC.

STORAGE AND STABILITY

All the kit components are ready to use, and will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closed at 2-8ºC and contaminations are prevented during their use. Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test.
Mix reagents gently before use.
Reagents deterioration: Presence of particles and turbidity.

ADDITIONAL EQUIPMENT
- Mechanical rotator with adjustable speed at 80-100 r.p.m.
- Vortex mixer.
- Pippetes 50 µL.

SAMPLES
Fresh serum. Stable 7 days at 2-8ºC or 3 months at –20ºC.
Samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing.
Do not use highly hemolysed or lipemic samples.

PROCEDURE
Qualitative method
1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50 µL of the sample (Note 1) and one drop of each Positive and Negative controls into separate circles on the slide test.
3. Mix the CRP-latex reagent vigorously or on a vortex mixer before using and add one drop (50 µL) next to the samples to be tested.
4. Mix the drops with a stirrer, spreading them over the entire surface of the circle. Use different stirrers for each sample.
5. Place the slide on a mechanical rotator at 80-100 r.p.m. for 2 minutes. False positive results could appear if the test is read later than two minutes.

Semi-quantitative method
1. Make serial two fold dilutions of the sample en 9 g/L saline solution.
2. Proceed for each dilution as in the qualitative method.

READING AND INTERPRETATION
Examine macroscopically the presence or absence of visible agglutination immediately after removing the slide from the rotator.
The presence of agglutination indicates a CRP concentration equal or greater than 6 mg/L (Note 2 and 3).
The titer, in semi-quantitative method, is defined as the highest dilution showing a positive result.

CALCULATIONS
The approximate CRP concentration in the patient sample is calculated as follow:

6 x CRP Titer = mg/L

QUALITY CONTROL
Positive and Negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation.
All result different from the negative control result, will be considered as a positive.

REFERENCE VALUES
Up to 6 mg/L. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
1. **Analytical sensitivity:** 6 (5-10) mg/L, under the described assay conditions
2. **Prozone effect:** No prozone effect was detected up to 1600 mg/L (Note 1).
3. **Diagnostic sensitivity:** 95.6 %.
4. **Diagnostic specificity:** 96.2 %.

INTERFERENCES
Hemoglobin (10 g/L), bilirubin (20 mg/dL) and lipids (10 g/L), do not interfere. Rheumatoid factors (100 IU/mL), interfere. Other substances may interfere[7].

NOTES
1. High CRP concentration samples may give negative results (prozone effect). Re-test the sample again using a drop of 20 µL.
2. The strength of agglutination is not indicative of the CRP concentration in the samples tested.
3. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 196-201.
2. M.M. Pepys. The Lancet 1981; March 21: 653 – 656.
3. Chetana Vaishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 – 144
4. Yoshitsugy Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 – 27.
5. Yamamoto S et al. Veterinary Immunology and Immunopathology 1993; 36: 257 – 264.
6. Charles Wadsworth et al. Clinica Chimica Acta; 1984: 138: 309 – 318.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

25/01/21

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,126 7º 28006 MADRID (SPAIN)