

Determinazione semi quantitativa della Proteina C-Reattiva nel siero umano. Metodo agglutinazione al lattice.

**REF** RT1013 R1: 2x2.5 mL + R2: 1x0.5 mL + R3: 1x0.5 mL

## METODO E PRINCIPIO

Il CRP-latex è un test di agglutinazione su vetrino per il rilevamento qualitativo e semiquantitativo della proteina C reattiva (CRP) nel siero umano. Le particelle di lattice sono rivestite con IgG di capra anti CRP e vengono agglutinate quando miscelate con campioni contenenti CRP.

## SIGNIFICATO CLINICO

La proteina C-reattiva (CRP) è un indice di infiammazione e la sua concentrazione nel sangue aumenta in presenza di vari processi infiammatori. La CRP viene prodotta principalmente nel fegato, in risposta a stimoli quali agenti nocivi, microrganismi patogeni e immunocomplessi, ma anche a seguito di traumi. La sua funzione è quella di legarsi alla parete di molti batteri, favorendo la fagocitosi e la loro distruzione da parte dei monociti. L'aumento della CRP si verifica in caso di malattie reumatologiche, infezioni batteriche e traumi. Rispetto alla VES (Velocità di Eritro Sedimentazione), la concentrazione di CRP cambia molto più rapidamente durante l'infiammazione. Un valore CRP cronicamente elevato è stato collegato a un aumento del rischio cardiovascolare. La CRP aumenta la sua concentrazione nel sangue nella fase acuta di varie malattie, nei processi infiammatori e dopo alcune operazioni chirurgiche. Dopo un evento acuto, entro poche ore i suoi livelli possono raggiungere valori centinaia di volte superiori alle condizioni basali. I livelli di CRP aumentano in modo significativo in risposta a un'ampia varietà di situazioni, comprese infezioni di origine batterica e virale, malattie cardiache, neoplasie maligne, reumatismo articolare acuto, ascessi addominali, peritonite, lupus, morbo di Crohn. In generale, quindi, alti livelli di proteina reattiva C indicano che l'organismo è sotto stress considerevole, ma non fornisce informazioni utili sull'origine del processo patologico, che deve essere investigato attraverso altri test.

## COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

**R1 (Reagente):** Particelle di lattice rivestite con IgG anti-CRP umana (da capra).

**R2:** Controllo Positivo > 20 mg/L

**R3:** Controllo Negativo.

Il kit contiene i cartoncini di reazione e gli stick monouso per agitare.

## STABILITA' DEI REAGENTI

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza indicata, se conservati come indicato sull'etichetta ed evitando contaminazione, evaporazione ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti. Dopo aver aperto i flaconi, è consigliabile utilizzarli il prima possibile, quindi chiudere immediatamente le bottiglie e conservarle in frigorifero per evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

## CAMPIONI

Raccogliere il siero utilizzando provette standard di prelievo. Utilizzare campioni di siero puliti (no emolisi o lipemia) e freschi. Il plasma, il siero lipemico o la contaminazione microbica possono causare risultati errati.

Se il test non può essere eseguito immediatamente, conservare il campione a +2 a +8°C per un massimo di 7 giorni. Per una conservazione più lunga, congelare il siero a -20° C per 3 mesi. Centrifugare i campioni contenenti precipitato prima di eseguire il test.

## PROCEDURA

### Test Qualitativo

1. Portare i reagenti e i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Agitare delicatamente il reagente al lattice prima dell'uso.
3. Posizionare una goccia (50 µL) di campione o una goccia (50 µL) di controllo positivo / negativo sul cartoncino di reazione.
4. Aggiungere una goccia del reagente al lattice (50 µL) a ciascun campo di prova. Utilizzare uno stick per diffondere la miscela di reazione sull'intero campo del test.
5. Ruotare il vetrino per 2 minuti. e leggere immediatamente sotto la luce diretta l'eventuale formazione di una agglutinazione.

### Test Quantitativo

1. Portare i reagenti e i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Agitare delicatamente il reagente al lattice prima dell'uso.
3. Diluire i campioni con soluzione salina a 1: 2, 1: 4, 1: 8, 1:16
4. Posizionare una goccia (50 µL) di campione diluito o una goccia (50 µL) di controllo positivo / negativo sul cartoncino di reazione.
5. Aggiungere una goccia del reagente al lattice (50 µL) a ciascun campo di prova. Utilizzare uno stick monouso per diffondere la miscela di reazione sull'intero campo del test.
6. Ruotare il cartoncino per 2 minuti. e leggere immediatamente sotto la luce diretta l'eventuale formazione di una agglutinazione.

## RISULTATI

### Risultati Test Qualitativo

- Una reazione negativa è indicata dalla presenza di una sospensione uniforme e senza agglutinazione.
- Una reazione positiva è indicata da agglutinazione osservabile nella miscela di reazione.

### Risultati Test Quantitativo

Il titolo del siero è dato dal prodotto tra il reciproco della massima diluizione che presenta una reazione positiva ed il cut off del test (6 mg/L).

La concentrazione di CRP del siero si trova tra la massima diluizione che mostra una reazione positiva (per esempio 1: 4) e la diluizione seguente che mostra una reazione negativa (per esempio 1: 8).

Per calcolare la concentrazione nel siero, moltiplicare il reciproco della diluizione per 6 mg /L (cut off del test).

Per Esempio:

Ultima diluizione positiva 1:4            4x6 mg/L = 24 mg/L

Prima diluizione negativa 1:8            8x6 mg/L = 48 mg/L

Concentrazione CRP è tra 24 e 48 mg/L.

## CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normale e patologici di concentrazione nota dovrebbero essere analizzati regolarmente con ciascun gruppo di campioni sconosciuti. Utilizzare il materiale del controllo di qualità di **MTD Diagnostics** incluso nel kit.

I valori ottenuti devono essere utilizzati per la valutazione della Precisione del metodo (Ripetibilità). Per la valutazione della Accuratezza del metodo

(Riproducibilità) è necessario aderire ad un programma di Valutazione della Qualità Esterna (VEQ) gestito da enti certificati.

## VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Fino a 6 mg/L.

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

## PRESTAZIONI

1. Sensibilità analitica: 6 (5-10) mg/L, nelle condizioni di saggio descritte, testate su materiale di riferimento CRM 470 / RPPHS.
2. Effetto Prozona: nessun effetto rilevato fino a 160 mg/L
3. Specificità diagnostica: 96,2%.
4. I risultati ottenuti con questo reagente non hanno mostrato differenze significative rispetto ai reagenti di riferimento.

## INTERFERENZE E SPECIFICITA'

L'Emoglobina (<1 g/dL), la Bilirubina (<20 mg/dL) e Lipemia (<1000 mg/dL) non interferiscono. Altre sostanze potrebbero interferire.

## NOTE

1. La presenza di fattori reumatoidi (RF) in un campione di siero può causare reazioni falsamente positive.
2. Reazioni deboli o negative possono verificarsi con presenza di marcato eccesso di antigene (effetto prozona).
3. La sensibilità del test può essere ridotta a basse temperature.
4. I migliori risultati si ottengono a 15-25°C.
5. Con ritardi nella lettura, i risultati possono risultare sovrastimati.
6. Quando il contenuto di CRP del siero è eccessivo, l'effetto prozona può provocare reazioni falsamente negative con siero non diluito. Ripetere il test usando 10 µL di campione. In caso di positività, ripetere il test diluendo il campione.
7. L'intensità della reazione di agglutinazione non è indicativa della concentrazione di CRP nei campioni testati.
8. La contaminazione batterica di controlli e campioni nonché il congelamento e lo scongelamento dell'antigene (Reagente 1) possono dare risultati falsi positivi.
9. Tracce di detergente nel cartoncino del test possono dare risultati falsi positivi. Lavare i cartoncini usati con acqua distillata prima di riutilizzarli.
10. L'antigene del lattice CRP (Reagente 1) non deve essere usato oltre la data di scadenza perché la conservazione prolungata può influire sulla sensibilità della sospensione.

## PRECAUZIONI

I sieri umani presenti nel Reagente R2-R3 (controlli) sono stati testati con metodi marcati CE e approvati FDA e sono stati trovati negativi per presenza di HBsAg, HIV 1&2, HCV. L'anticorpo presente nel reagente è di origine animale e non è in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo. Tuttavia, poiché non ci sono metodi capaci di assicurare la totale assenza di tali agenti infettanti o di altri microbi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente capace di trasmettere malattie infettive di ogni tipo, in accordo con le norme di Buona Pratica di Laboratorio.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche

(PBT). Il prodotto è classificato ed etichettato secondo le direttive CE o le corrispondenti normative nazionali. Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

## SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
	Numero di catalogo		Scadenza
	Numero di lotto		Fabbricante

## BIBLIOGRAFIA

- Adams, L.E., Hess, E. J. Amer. Technol. 48 (1978)  
 Dito, W. Am. Soc. Clin. Pat. 69, (1976)  
 Normausell, D. Immunochemistry 9, (1972)  
 Plotz and Singer, Am. J. Med. 22, (1979)