

USO

Dispositivo medico-diagnostico, in vitro, per la determinazione rapida qualitativa e/o semiquantitativa su card della Proteina C Reattiva (CRP) nel siero (metodo al lattice modificato). Il test viene eseguito facendo reagire una sospensione di particelle di lattice rivestite con anticorpi anti-CRP umana ed il campione di siero da analizzare. Lo sviluppo, o meno, di agglutinazione visibile indica un incremento della concentrazione di CRP, al di sopra dell'intervallo di riferimento, nel campione testato.

CONTENUTO DEL KIT

Codice	Confezione		
S31502	2 fialone 1 fialone 1 fialone cards	2 x 3 ml 1 x 1 ml 1 x 1 ml 2	Immunoagente Controllo positivo Controllo negativo

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

- Immunoagente (CRP-Latex):** sospensione stabilizzata di particelle di lattice in polistirene, sensibilizzate con anticorpi specifici anti-CRP umana, in soluzione salina tamponata. Contiene sodio azoturo 0.95 g/l
- Controllo positivo:** siero umano a concentrazione > 15 mg/l di CRP. Contiene sodio azoturo 0.95 g/l
- Controllo negativo:** siero di provenienza animale a concentrazione = 1 mg/l di CRP. Contiene sodio azoturo 0.95 g/l

Gli emoderivati di origine umana sono stati analizzati e riscontrati negativi per la presenza di anticorpi anti-HIV 1-2, anti-HCV e per HBSAg. Tali emoderivati e tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati, comunque, POTENZIALMENTE INFETTIVI e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.



ATTENZIONE: il materiale reagentario presente nel kit contiene sodio azoturo: evitare il contatto con la pelle e/o le mucose

CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI.

Il contenuto del kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sulle relative etichette, se conservato a 2-8°C ben chiuso, lontano da fonti di luce, evitando accuratamente contaminazioni durante l'uso. NON CONGELARE.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti sono pronti all'uso.

RACCOLTA DEL CAMPIONE



Utilizzare siero fresco ottenuto per centrifugazione. La stabilità della CRP nel siero è di 7 giorni a 2-8°C. Per lunghi periodi di stoccaggio è necessario conservare il campione a -20°C: evitare procedure di scongelamento-congelamento

MATERIALE AGGIUNTIVO

- Micropipette automatiche
- Agitatore orbitante (100 r.p.m.)
- Contagocce monouso
- Timer
- Soluzione fisiologica (NaCl 0.9%, da utilizzarsi soltanto per la procedura semiquantitativa)

PROCEDURA OPERATIVA I (test qualitativo)

- Portare i reattivi ed i campioni a temperatura ambiente (Nota 1).
- Rispondere delicatamente il contenuto del fialone di immunoagente: utilizzare il contagocce per omogeneare accuratamente il contenuto
- Depositare 1 goccia (50 µL) del campione da testare ed una goccia di ciascun controllo in cerchi separati della card di reazione.
- Aggiungere ad ogni cerchio una goccia dell'immunoagente, vicina al campione da analizzare.
- Mescolare con l'aiuto della bacchetta monouso, stendendo la miscela su tutta la superficie interna del cerchio. Impiegare bacchette diverse per ciascun campione.
- Porre la card sul piano dell'agitatore orbitante, regolato a 100 r.p.m. per 2 minuti (Nota 2).
- Subito dopo, valutare la presenza o assenza di agglutinazione sotto idonea fonte luminosa.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Non reattivo: sospensione uniforme, senza visibile agglutinazione, simile alla reazione del controllo negativo

Reattivo: agglutinazione visibile macroscopicamente di qualsiasi grado (Nota 4)

PROCEDURA OPERATIVA II (test semi-quantitativo)

- Per ciascun campione dispensare 50 µl di soluzione fisiologica in un cerchio diverso della card, evitandone la fuoriuscita all'esterno dell'area circolare
- Relativamente a ciascun campione, aggiungere, al primo cerchio utilizzato, 50 µl di campione ed, utilizzando la stessa punta, mescolare la soluzione fisiologica con il campione mediante ripetute aspirazioni ed espulsioni della miscela reattiva e, quindi, trasferire 50 µl di tale miscela al secondo cerchio (diluizione al raddoppio)
- Continuare con le diluizioni al raddoppio fino al sesto cerchio, ed eliminare 50 µl della miscela da quest'ultimo. Le diluizioni in serie risulteranno, pertanto: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64
- Testare ogni diluizione come descritto nei punti da 4 a 7 della PROCEDURA OPERATIVA I

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La procedura è la medesima riportata per il test qualitativo. Il titolo di CRP nel campione viene definito come la più alta diluizione del campione che mostra reattività. La diluizione successiva deve risultare negativa (Nota 3). Qualora la diluizione 1:64 risulti ancora reattiva, ripetere il test iniziando dal campione pre-diluito 1:16. In questo caso utilizzare il controllo negativo diluito 1:50 in soluzione fisiologica al posto della soluzione fisiologica assoluta per effettuare queste nuove diluizioni al raddoppio.

Il valore approssimativo della concentrazione di CRP (mg/l) nel campione si ottiene moltiplicando il titolo dell'ultima diluizione reattiva per la minima concentrazione rilevabile (sensibilità analitica).

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si raccomanda l'utilizzo di siero controllo NEGATIVO e POSITIVO per verificare la qualità della procedura analitica. Il controllo positivo deve evidenziare un'agglutinazione evidente: qualora non fosse possibile ottenere i risultati attesi, il kit dovrebbe essere scartato. Ciascun Laboratorio deve stabilire la propria procedura interna di Controllo di Qualità.

RISULTATI ATTESI^{2,5}

Sebbene la concentrazione della CRP nel siero di soggetti adulti sia usualmente inferiore a 5 mg/l, in un certo numero di condizioni patologiche questi valori spesso risultano incrementati dopo 4-8 ore da un evento acuto, potendo raggiungere concentrazioni sieriche fino a 500 mg/l. Poiché elevati livelli di CRP sono sempre associati con stati patologici, la determinazione della Proteina C Reattiva è di notevole ausilio nella diagnosi, trattamento e monitoraggio delle condizioni infiammatorie.

CONSIDERAZIONI CLINICHE⁵⁻⁸

La CRP è una proteina della fase acuta presente, a bassa concentrazione, anche nel siero di soggetti sani. Aumenta in modo significativo a seguito di numerose forme di danno tissutale, infezioni batteriche e virali, flogosi e neoplasie maligne. La CRP contribuisce alla immunità aspecifica mediante attivazione del complemento ed attivazione della fagocitosi. Il test CRP possiede un elevato valore predittivo per una diagnosi presuntiva, effettuata su basi anamnestiche e riscontri clinici obiettivi.

PRESTAZIONI DEL METODO

- La minima concentrazione rilevabile (sensibilità analitica) è di circa 6 mg/l (5-10 mg/l), con tracciabilità al Materiale di Riferimento CRM 470/RPPHS
- Specificità diagnostica: 96,2%
- Effetto prozona: assente fino a 1600 mg/l di CRP.
- I risultati ottenuti con la presente procedura analitica non mostrano significative differenze quando correlati a dosaggi effettuati con reagenti di riferimento; sono disponibili, a richiesta, i dettagli relativi a studi di correlazione.
- L'emoglobina (< 10 g/l), la bilirubina (< 20 mg/dl) e la lipemia (< 10 g/l) non provocano interferenze analitiche. Altre sostanze possono interferire nel dosaggio⁹

LIMITI DEL METODO

- Reazioni falsamente positive possono essere osservate in presenza di elevate concentrazioni di Fattori Reumatoidi (RF) nel campione
- Agglutinazioni deboli o risultati falsamente negativi possono occasionalmente verificarsi in caso di marcato eccesso di anticorpo (effetto prozona)

NOTE

- La sensibilità del test si riduce a bassa temperatura. Risultati ottimali si ottengono tra 15-25°C.
- Un ritardo eccessivo nella lettura dei risultati può provocare una sovrastima della concentrazione di CRP nel campione
- Nel caso di concentrazioni molto elevate di CRP nel siero (>1600 mg/l), l'effetto prozona può produrre una reazione falsamente negativa nel campione non diluito, in tal caso il test deve essere ripetuto utilizzando 10 µl di campione. In caso di positività eseguire la titolazione secondo la PROCEDURA OPERATIVA II
- L'intensità della reazione di agglutinazione non è ASSOLUTAMENTE indicativa della concentrazione di CRP nel campione testato

CAUSE DI ERRORE

- Risultati falsamente positivi possono essere provocati da contaminazione batterica dei controlli e o dei campioni, oppure da congelamento e scongelamento dell'immunoagente.
- Tracce di detergente presenti sulle cards possono provocare false positività. Lavare le cards usate inizialmente sotto acqua corrente, fino alla rimozione completa dei reattivi ed, infine, con acqua deionizzata. Lasciar asciugare, evitando l'uso di solventi organici, in quanto questi potrebbero danneggiare la speciale finitura della card.
- L'immunoagente non deve mai essere utilizzato oltre la data di scadenza, poiché una prolungata conservazione potrebbe alterare la sensibilità della sospensione.

BIBLIOGRAFIA

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

Codici di Riordino:

S31502 PROTEINA C REATTIVA (CRP) 100 Tests



Bio Plastic Sas - 00100 Roma