

PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) PRUEBA LÁTEX

USO PREVISTO.

La prueba de látex de proteína C reactiva (PCR) se utiliza para las pruebas cualitativas y medición semi cuantitativa de la proteína C reactiva (PCR) en suero humano.

INTRODUCCIÓN.

La proteína C reactiva (PCR), la fase aguda clásica del suero humano, es sintetizado por hepatocitos. Normalmente, está presente solo en trazas cantidades en suero, pero puede aumentar hasta 1000 veces en respuesta a una lesión o infección. La medición clínica de la PCR en el suero, por lo tanto, parece ser una prueba de detección valiosa para enfermedad y un índice sensible de actividad de la enfermedad en inflamaciones, infecciosas e isquémicas.^{1,2} MacLeod y Avery encontraron que el anticuerpo producido contra la PCR purificada proporcionó una mayor sensibilidad que el ensayo de la C-polisacárido.³ Desde ese momento se han diseñado varios ensayos inmunológicos para medir la PCR, tales como precipitación capilar, inmunodifusión doble e inmunodifusión radical.^{4,5}

El kit de reactivos PCR se basa en el principio del ensayo látex de aglutinación descrito por Singer y Plotz.⁶ Los principales La ventaja de este método es el rápido tiempo de reacción de tres (3) minutos.

PRINCIPIO.

El kit de reactivos PCR se basa en una reacción inmunológica entre Antisueros de PCR unidos a partículas de látex biológicamente inertes y PCR en la muestra de prueba. Cuando el suero contiene más de 0,8 mg/dl. La PCR se mezcla con el reactivo de látex y se produce una aglutinación visible.

REACTIVOS.

1. Reactivo de látex PCR: una suspensión de poliestireno uniforme partículas recubiertas con PCR mono-específico antihumano (cabra) en tampón de glicina, pH 8,8 + 0,5; Sensibilidad del reactivo ajustada a aproximadamente 0,8 mg/dl. **MEZCLE BIEN ANTES DE USAR.**
2. Suero de control positivo de PCR: un suero humano prediluido estabilizado que contiene más de 0,8 mg/dl de PCR.
3. Suero de control negativo de PCR: un suero humano prediluido estabilizado no reactivo con el reactivo de prueba.
4. Tampón de glicina-solución salina (20x): pH 8,2 ± 0,1; un diluyente que contiene Glicina 0,1 M y NaCl 0,15 M. Diluir tampón de glicina-solución salina antes de usar, agregando 1 parte de solución tampón de glicina-salina a 19 partes de agua destilada. Todos los reactivos contienen 0,1% (w/v) de sodio azida como conservante.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

1. Los reactivos que contienen azida de sodio pueden combinarse con cobre y plomería para formar azidas metálicas altamente explosivas. Deseche los reactivos enjuagándolos con grandes cantidades de agua para prevenir la acumulación de azida.
2. Para uso diagnóstico in vitro.
3. Se encontraron controles positivos y negativos preparados con sueros humanos negativo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg); sin embargo, manejar los controles como si fueran potencialmente infecciosos.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE REACTIVOS.

1. Los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta del frasco cuando se almacena refrigerado (2-8 ° C).
2. NO CONGELAR.
3. El reactivo de látex PCR, una vez agitado debe

ser uniforme sin aglutinación visible. Cuando se almacena refrigerado, ligera sedimentación, puede ocurrir y debe considerarse normal.

4. No utilice el reactivo de látex o los controles si se contaminan.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS.

1. Use suero fresco recolectado centrifugando sangre coagulada.
2. Si la prueba no puede realizarse el mismo día, el suero puede almacenarse entre 2 y 8 ° C durante no más de 72 horas después colección.
3. Durante períodos más prolongados, la muestra debe congelarse.
4. Como en todas las pruebas serológicas, suero hemolítico o contaminado no debe utilizarse.
5. No use plasma.

MATERIALES Y REACTIVOS SUMINISTRADOS.

1. Reactivo de látex PCR.
2. Control positivo de PCR.
3. Control negativo de PCR.
4. Tampón de glicina-solución salina.
5. Portaobjetos de vidrio.
6. Palitos para revolver.

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

1. Temporizador.
2. Tubos de ensayo.
3. Gradilla para tubos de ensayo.

PROCEDIMIENTO:

PRUEBA CUALITATIVA:

1. Deje que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.
2. Coloque una gota (50 µl) del control positivo de PCR en el campo n.º 1 del portaobjetos de vidrio. Coloque una gota (50 µl) de PCR Negativo Control en el campo # 2. Los campos restantes se utilizan para la prueba especímenes. Con una pipeta, coloque una gota del líquido sin diluir especímenes en campos sucesivos.
3. Resuspenda suavemente el reactivo de látex PCR y agregue una gota al cada campo de prueba. Use un palillo para esparcir la mezcla de reacción sobre el todo el campo de prueba.
4. Gire la diapositiva durante tres (3) minutos y lea inmediatamente bajo luz directa.

PRUEBA SEMICUANTITATIVA.

1. Configure al menos cinco tubos de ensayo: 1: 2, 1: 4, 1: 8, 1:16, etc.
2. Diluya la muestra de acuerdo con el factor de dilución en cada tubo de prueba con solución salina diluida.
3. Coloque una gota de cada uno de los controles positivos y negativos en campos separados. Coloque una gota de cada dilución sucesiva en los campos del portaobjetos de vidrio.
4. Resuspenda suavemente el reactivo de látex PCR y agregue una gota al cada campo de prueba.
5. Mezclar bien con el extremo plano de la pipeta. Mueva suavemente el portaobjetos durante tres (3) minutos y leer inmediatamente bajo luz directa.
6. El título del suero es el recíproco de la dilución más alta, exhibiendo una reacción positiva multiplicada por la concentración del control positivo.

mg/dL de suero = concentración de control x recíproco de la
del ensayo Cutoff dilución que muestra
un resultado positivo

Dilución	Recíproco	Conc. de suero (mg / dL)
1: 2	2	1.6
1: 4	4	3.2
1: 8	8	6.4 etc.

CONTROL DE CALIDAD.

1. En cada lote de prueba deben incluirse controles positivos y negativos de PCR.
2. Se indica un rendimiento aceptable cuando se observa una suspensión lechosa uniforme sin aglutinación con el Control Negativo PCR y se

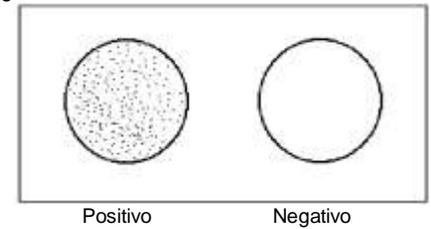
observa aglutinación con agregados grandes con el Control Positivo PCR.

INTERPRETACIÓN.

Resultado negativo: una reacción negativa está indicada por una suspensión lechosa uniforme sin aglutinación como se observa con el control negativo PCR.

Resultado positivo: una reacción positiva está indicada por cualquier aglutinación observable en la mezcla de reacción. La reacción de la muestra debe compararse con el control negativo de PCR (Figura 1).

Figura 1.



VALORES ESPERADOS.

1. La PCR en individuos sanos es de aproximadamente 0,02-1,35 mg/dl. El valor medio en adultos es de 0,047 mg/dl.
2. Se encontró una correlación positiva débil entre PCR y edad.
3. Es importante determinar el nivel de PCR para monitorear el progreso del paciente. Esto se debe a (1) la concentración de PCR es un índice de daño tisular incurrido y (2) los niveles crecientes o decrecientes de PCR (por ejemplo, diariamente) indican el progreso del proceso inflamatorio.

LIMITACIONES.

1. El tiempo de reacción es fundamental. Si el tiempo de reacción excede los tres (3) minutos, el secado de la mezcla de reacción puede producir resultados falsos positivos.
2. La congelación del reactivo de látex PCR provocará una aglutinación espontánea.
3. La intensidad de la aglutinación no es necesariamente indicativa de la concentración relativa de PCR; por lo tanto, las reacciones de detección no deben clasificarse.
4. Un falso negativo puede atribuirse a un fenómeno de prozona (exceso de antígeno). Por lo tanto, se recomienda comprobar todos los sueros negativos volviendo a realizar la prueba a una dilución 1:10 con tampón de glicina.

RENDIMIENTO.

1. Sensibilidad: superior a 0,8 mg/dl
2. Linealidad: 25 mg / dl.
3. Comparación:
 - A. Resultados cualitativos: Un estudio realizado con el reactivo de látex PCR y un producto disponible comercialmente arrojó un 100% de precisión.
 - B. Resultados semicuantitativos: un panel de 32 muestras de suero positivas a PCR se analizó (semicuantitativamente) el mismo día. Los resultados del estudio indicaron que el reactivo de látex PCR tiene una precisión del 92,9%.

REFERENCIAS.

1. Pepys, M.B .. Lancet 1: 653 (1981).
2. Werner, M .. Clin.Chem. Acta 25: 299 (1969).
3. MacLeod, C.M., et. al .. J. Exp. Med 73: 191 (1941).
4. Wood, HF., Et. al .. J. Clin. Invertir. 30: 616 (1951).
5. Mancini, G., et. al. Immunochemistry 2: 235 (1965).
6. Singer, J.M., et. al .. Am. J. Med 21: 888 (1956).
7. Fischer, C.L., Gill .. C.W .. En anomalías de las proteínas séricas. Boston, Little, Brown and Co., (1975).

