

Determinación cuantitativa de Proteína C-Reactiva (PCR) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

PCR-Turbilátex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de proteína C-reactiva (PCR) en suero o plasma humano.

Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-PCR humana, son aglutinadas por PCR presente en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de PCR de la muestra, y por comparación con un calibrador de PCR de concentración conocida se puede determinar el contenido de PCR en la muestra ensayada.

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

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, pH 8,2. Azida sódica 0,95 g/L.
Látex (R2)	Partículas de látex cubiertas de IgG de cabra anti-PCR humana, pH, 7,3. Azida sódica 0,95 g/L.
CRP-CAL	Calibrador. La concentración de PCR viene indicada en la etiqueta del vial.
Opcional	Ref: 1102114 Suero Control ASO/PCR/FR Nivel L Ref: 1102115 Suero Control ASO/PCR/FR Nivel H

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

Usar el Calibrador PCR Referencia 1107002.

La sensibilidad del ensayo y el valor de concentración del Calibrador están estandarizados frente el Material de Referencia CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

La calibración en el SPINLAB 180 es estable durante 1 mes.

Recalibrar cuando los resultados del control están fuera de especificaciones, cuando se usa diferente lote de reactivo y cuando se ajusta el instrumento.

PREPARACIÓN

Reactivo de Trabajo: Homogeneizar el Reactivo de Látex con suavidad antes de diluirlo. Preparar la cantidad necesaria según la siguiente proporción:

1 mL Reactivo Látex + 9 mL Reactivo Diluyente

Calibrador de PCR: Reconstituir (→) el liofilizado con 1,0 mL de agua destilada. Mezclar con suavidad y dejar 10 minutos en reposo antes de usarlo.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas y turbidez.

Reactivo de Trabajo: Estable 30 días a 2-8°C.

Calibrador reconstituido: Estable 1 mes a 2-8°C ó 3 meses a -20°C.

La congelación de los reactivos de Látex y Diluyente altera irreversiblemente la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.

- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 540 nm.

MUESTRAS

Suero fresco. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de usar.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar el Reactivo de Trabajo y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 540 nm (530 – 550)

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo de Trabajo (mL)	1,0
Calibrador o muestra (µL)	5,0

5. Mezclar y leer la absorbancia frente al blanco inmediatamente (A₁) y a los 2 minutos (A₂) de efectuada la mezcla.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CÁLCULOS

$$\frac{(A_2 - A_1)_{\text{muestra}}}{(A_2 - A_1)_{\text{Calibrador}}} \times \text{Concentración del Calibrador} = \text{mg/L PCR}$$

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Debe usarse el control de SPINREACT ASO/PCR/FR nivel L (Ref: 1102114) y nivel H (Ref: 1102115). Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

Valores normales hasta 6 mg/L.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Límite de linealidad:** hasta 150 mg/L, en las condiciones descritas del ensayo. Muestras con concentraciones superiores deben diluirse 1/5 en NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. La linealidad puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado, así como de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.
- Límite de detección:** Valores por debajo de 2 mg/L dan lugar a resultados poco reproducibles.
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 800 mg/L.
- Sensibilidad:** Δ 4,2 mA.mg/L.
- Precisión:**

Media (mg/L)	Intraserie (n=10)			Interserie (n=10)		
	8,6	16,9	50,5	8,6	16,8	50,5
SD	0,56	0,61	0,97	0,74	1,11	3,2
CV	6,5	3,6	1,9	7,7	6,6	6,3

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método (x) de características similares. 65 muestras de concentraciones entre 1 y 150 mg/L de PCR fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,98 y la ecuación de la recta de regresión y = 0,892x + 0,282.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), lípidos (10 g/L) y factores reumatoides (300 UI/mL) no interfieren. La hemoglobina (≥ 5 g/L), interfiere. Otras sustancias pueden interferir⁷.

NOTAS

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

- Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 196-201.
- Chetana Vaishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 – 144.
- Yoshitsugu Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 – 27.
- Kari Pulki et al. Sacand J Clin Lab Invest 1986; 46: 606 – 607.
- Werner Müller et al. Journal of Immunological Methods 1985; 80: 77 – 90.
- Shogo Otsuji et al. Clin Chem 1982; 28/10: 2121 – 2124.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref.: 1107001N	Cont.	: 1 x 45 mL R1 Diluyente
		: 1 x 5 mL R2 Látex
		: 1 x 1 mL CRP-CAL

Quantitative determination of C-Reactive Protein (CRP) IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

CRP-Turbilatex is a quantitative turbidimetric test for the measurement of C- reactive protein (CRP) in human serum or plasma. Latex particles coated with specific anti- human CRP are agglutinated when mixed with samples containing CRP. The agglutination causes an absorbance change, dependent upon the CRP contents of the patient sample that can be quantified by comparison from a calibrator of known CRP concentration.

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

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, pH 8.2. Sodium azide 0.95 g/L.
Latex (R2)	Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP, pH 7.3. Sodium azide 0.95 g/L.
CRP-CAL	Calibrator. C-Reactive protein concentration is stated on the vial label.
Optional	Ref.:1102114 Control serum ASO/CRP/RF Level L. Ref.:1102115 Control serum ASO/CRP/RF Level H.

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

Use CRP Calibrator Reference 1107002. The sensitivity of the assay and the target value of the calibrator have been standardized against the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). The calibration in the SPINLAB 180 is stable for 1 month. Recalibrate when control results are out of specified tolerances, when using different lot of reagent and when the instrument is adjusted.

PREPARATION

Working reagent: Swirl the latex vial gently before use. Prepare the necessary amount as follows:
1 mL Latex Reagent + 9 mL Diluent

CRP Calibrator: Reconstitute (→) with 1.0 mL of distilled water. Mix gently and incubate 10 minutes at room temperature before use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: Presence of particles and turbidity.

Working reagent: Stable for 30 days at 2-8°C.

CRP Calibrator: Stable for 1 month at 2-8°C or 3 months at -20°C.

Do not freeze; frozen Latex or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 540 nm filter.

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

1. Bring the working reagent and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
2. Assay conditions:

Wavelength: 540 nm (530-550)

Temperature: 37°C

Cuvette lighth path: 1 cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

Working Reagent (mL)	1.0
Calibrator or sample (µL)	5.0

5. Mix and read the absorbance immediately (A₁) and after 2 minutes (A₂) of the sample addition.

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

$$\frac{(A_2 - A_1)_{\text{sample}}}{(A_2 - A_1)_{\text{calibrator}}} \times \text{Calibrator concentration} = \text{mg/L CRP}$$

QUALITY CONTROL

Control Sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. It should be used SPINREACT Controls ASO/CRP/RF Level L (Ref.:1102114) and Level H (Ref.:1102115).

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Normal values up to 6 mg/L.

Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Linearity limit:** Up to 150 mg/L, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio, as well as the analyzer used. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
2. **Detection limit:** Values less than 2 mg/L give non-reproducible results.
3. **Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 800 mg/L.
4. **Sensitivity:** Δ 4.2 mA.mg/L.
5. **Precision:**

Mean (mg/L)	Intra-assay (n=10)			Inter-assay (n=10)		
	8.6	16.8	50.5	8.6	16.8	50.5
SD	0.56	0.61	0.97	0.74	1.11	3.2
CV	6.5	3.6	1.9	7.7	6.6	6.3

6. **Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using a commercial reagent (x) with similar characteristics. 65 samples ranging from 1 to 150 mg/L of CRP were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.98 and the regression equation y=0.892x + 0.282.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Bilirubin (20 mg/dL), lipemia (10 g/L) and rheumatoid factors (300 IU/mL) do not interfere, Hemoglobin (≥ 5 g/L), interferes. Other substances may interfere.

NOTES

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 Infect Diseases 1997; 10: 196-201.
2. Chetana Vaishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 – 144.
3. Yoshitsugy Hokama et al. Journal of Clinical Lab. Status 1987; 1: 15 – 27.
4. Kari Pulki et al. Sacand J Clin Lab Invest 1986; 46: 606 – 607.
5. Werner Müller et al. Journal of Immunological Methods 1985; 80: 77 – 90.
6. Shogo Otsuji et al. Clin Chem 1982; 28/10: 2121 – 2124.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCC Press, 1995.

PACKAGING

Ref: 1107001N	: 1 x 45 mL R1 Diluent
Cont.	: 1 x 5 mL R2 Latex
	: 1 x 1 mL CRP-CAL