

Quantitative determination of low levels of C-Reactive Protein
IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

CRP ultrasensitive is a quantitative turbidimetric test for the measurement of low levels 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. CRP may be also useful in detecting atherosclerotic process and providing important prognostic information about patients with asymptomatic heart disease, unstable angina, and myocardial infarction. Recent studies in apparently healthy people show that CRP concentration in serum rise long before traditional symptoms of heart and vascular diseases are noticed.

REAGENTS

Diluent-ultra (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, pH 8.2. Preservative.
Latex-ultra (R2)	Latex particles coated with goat IgG anti-human CRP, pH 7.3. Preservative.
U-CRP CAL	Liquid Calibrator. C-Reactive protein concentration is stated on the vial label.
Optional	Ref: 43036 CRP Ultra Control.

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 Ultra Calibrator Reference 43035.

The sensitivity of the assay and the target value of the calibrator have been standardized against the Reference Material ERM-DA 474/IFCC.

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

CRP Calibrator: Ready for use.

Calibration curve: Prepare the following CRP calibrator dilutions in NaCl 9 g/L. Multiply the concentration of the CRP calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the CRP concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
CRP Calibrator (µL)	--	5	10	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	95	90	75	50	--
Factor	0	0.05	0.1	0.25	0.5	1.0

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. Reagents should not be left inside the analyzer after use, they must be stored refrigerated at 2-8°C. Latex may sediment. Mix reagents gently before use.

Do not use reagents over the expiration date.

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

Reagent deterioration: Presence of particles (R1, R2) and turbidity (R1).

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.

- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 540 nm filter (530-550).

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 reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.

2. Assay conditions:

Wavelength: 540 nm (530-550)

Temperature: 37°C

Cuvette path: 1 cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

R1. Diluent (mL)	0.8
R2. Latex (mL)	0.2

5. Mix and read the absorbance (reagent blank).

6. Add the sample / calibrator.

	Blank	Sample/Calibrator
NaCl 9 g/L (µL)	10	--
Calibrator or sample (µL)	--	10

7. Mix and read absorbance after 4 minutes (A_2) of the sample/ calibrator addition.

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

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ($A_2 - A_{\text{blank}}$) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the CRP concentration of each calibrator dilution. CRP concentration in the sample is calculated by interpolation of its ($A_2 - A_{\text{blank}}$) in the calibration curve.

QUALITY CONTROL

Control Sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. It should be used the SPINREACT CRP Ultra Control (Ref.:43036). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Below 3 mg/L is considered normal.

Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity limit: Up to 10 mg/L, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations should be diluted 1/3 in NaCl 9 g/L and re-tested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.

Detection limit: Values less than 0.05 mg/L give non-reproducible results.

Prozone effect: No prozone effect was detected upon 800 mg/L.

Sensitivity: Δ 44 mA.mg/L.

Precision: The reagent has been tested for 20 days, using three different CRP concentrations in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	+/- 0.28 mg/L	+/- 3.09 mg/L	+/- 5.95 mg/L
Total	7.7%	2.7%	3.0%
Within Run	4.5%	1.7%	1.4%
Between Run	4.7%	1.9%	2.7%
Between Day	4.1%	0.7%	0.0%

Accuracy: Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using a commercial reagent (x) with similar characteristics. 23 samples of different concentrations of CRP were assayed. The correlation coefficient (r) was 0,99 and the regression equation $y=1,0028x-0,0625$.

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

INTERFERENCES

Bilirubin (20 mg/dL), lipemia (5 g/L) and hemoglobin (5 g/L), do not interfere. Other substances may interfere⁸.

NOTES

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Thomas A et al. IVD Technology 2000; March/April: 27-35.
2. Macy E M et al. Clinical Chemistry 1997; 43: 52-58.
3. Pearson TA et al. Circulation 2003;107:499-511.
4. Haverkate F et al. Fibrinolysis and Proteolysis 1007; 11: 1331-134.
5. Ronald D et al. Journal of Clinical Ligand Assay 1997; 313-315.
6. Ridker PM et al. The New England Journal of Medicine 2000; 23: 836-843.
7. Koenig W et al. Circulation 1999; 99: 237-242.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCC Press, 1995.

PACKAGING

Ref: 43134

Cont.

R1. Diluent: 1 x 40 mL

R2. Latex: 1 x 10 mL

U-CRP CAL: 1 x 2 mL

Determinación cuantitativa de niveles bajos de Proteína C-Reactiva
IVD

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

PCR-Ultrasensible es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de bajos niveles de proteína C-reactiva 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. Es importante destacar el papel de la PCR como indicador de pronóstico de procesos arterioscleróticos y en pacientes con enfermedades cardíacas asintomáticas, anginas de pecho inestables e infartos de miocardio. Estudios recientes en individuos aparentemente normales muestran que la PCR aumenta su concentración en suero mucho antes de desarrollarse episodios coronarios y cerebrovasculares.

REACTIVOS

PCR-ultra Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, pH 8,2. Conservante.
PCR-ultra Látex (R2)	Partículas de látex cubiertas de IgG de cabra anti-PCR humana, pH, 7,3. Conservante.
U-CRP CAL	Calibrador líquido. La concentración de PCR viene indicada en la etiqueta del vial.
Opcional	Ref: 43036 PCR Ultra Control

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 ultra Referencia 43035.

La sensibilidad de los reactivos y el valor de concentración del Calibrador están estandarizadas frente al Material de Referencia ERM-DA 474/IFCC.

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
Calibrador de PCR: Listo para su uso.

Curva de calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador de PCR en NaCl 9 g/L. Para obtener las concentraciones de cada dilución de PCR, multiplicar la concentración del Calibrador de PCR por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución Calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador PCR (µL)	--	5	10	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	95	90	75	50	--
Factor	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1,0

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C y se evita la contaminación durante su uso. No deben dejarse los reactivos dentro del analizador después de su uso; conservar refrigerados a 2-8°C. El látex puede sedimentar. Agitar suavemente los reactivos antes de usar.

No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

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

Deterioro de los reactivos: Presencia de partículas (R1, R2) y turbidez (R1).

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 540 nm.
- NaCl 9 g/L.

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 para su eliminación.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos 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:

R1. Diluyente (mL)	0.8
R2. Látex (mL)	0.2

5. Mezclar y leer la absorbancia (blanco de reactivo)

6. Anadir la muestra / calibrador

	Blanco	Muestra/Calibrador
NaCl 9 g/L (µL)	10	--
Calibrador o muestra (µL)	--	10

 7. Mezclar y leer la absorbancia a los 4 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

 Calcular la diferencia de absorbancias (A₂-A_{blanco}) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de PCR de cada dilución del Calibrador. La concentración de PCR de la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂-A_{blanco}) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control de bajo nivel de concentración de PCR para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Debe usarse el control de CRP Ultra de SPINREACT (Ref.: 43036).

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

Hasta 3 mg/L es considerado normal.

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO
Límite de linealidad: hasta 10 mg/L, en las condiciones descritas del ensayo. Puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado. La linealidad depende de la relación muestra/reactivo.

Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad. Para concentraciones de PCR más elevadas, diluir la muestra 1/3 en NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

Límite de detección: Valores por debajo de 0,05 mg/L dan lugar a resultados poco reproducibles.

Efecto prozona: No se observa hasta valores de 800 mg/L (Nota 1).

Sensibilidad: Δ 44 mA. mg/L.

Precisión: El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres concentraciones diferentes de PCR en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	+/- 0.28 mg/L	+/- 3.09 mg/L	+/- 5.95 mg/L
Total	7.7%	2.7%	3.0%
Within Run	4.5%	1.7%	1.4%
Between Run	4.7%	1.9%	2.7%
Between Day	4.1%	0.7%	0.0%

Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método (x) de características similares. 23 muestras de diferentes concentraciones de PCR fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,99 y la ecuación de la recta de regresión $y = 1,0028x - 0,0625$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

 Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (5 g/L) y lípidos (5 g/L) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁸.

NOTAS

El diagnóstico clínico no debe basarse en los resultados de un solo test, debe ser valorado junto a la historia clínica del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thomas A et al. IVD Technology 2000; March/April: 27-35.
2. Macy E M et al. Clinical Chemistry 1997; 43: 52-58.
3. Pearson TA et al. Circulation 2003;107:499-511.
4. Haverkate F et al. Fibrinolysis and Proteolysis 1007; 11: 1331-134.
5. Ronald D et al. Journal of Clinical Ligand Assay 1997; 313-315.
6. Ridker PM et al. The New England Journal of Medicine 2000; 23: 836-843.
7. Koenig W et al. Circulation 1999; 99: 237-242.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 43134	Cont.	R1 Diluyente: 1 x 40 mL
		R2 Látex: 1 x 10 mL
		U-CRP CAL: 1 x 2 mL

Détermination quantitative des faibles niveaux de la Protéine Réactive C
IVD

A conserver à 2-8°C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'essai ultrasensible de la CRP est un dosage quantitatif immuno-turbidimétrique destiné à déterminer les faibles niveaux de la protéine réactive C (CRP) dans le sérum ou le plasma humain.

Les particules de Latex enrobées d'anticorps humains CRP sont agglutinées lorsqu'elles sont mélangées aux échantillons qui contiennent la CRP. L'agglutination cause une variation de l'absorbance qui dépend du contenu de la CRP dans l'échantillon du patient qui peut être quantifié en comparaison avec un calibrateur d'une concentration connue de la CRP.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La CRP est une protéine de phase aiguë présente dans un sérum normal, qui augmente considérablement après la plupart des formes de lésions des tissus, des infections bactériennes et virales, l'inflammation et la néoplasie maligne. La CRP peut également être utile pour détecter un processus d'athérosclérose et apporter des informations importantes concernant un pronostic pour les patients atteints d'une maladie cardiaque asymptomatique, d'une angine instable et d'un infarctus du myocarde. Des études récentes chez des personnes apparemment en bonne santé montrent que la concentration de CRP dans le sérum augmente bien avant l'apparition des symptômes traditionnels de maladies cardiaques et vasculaires.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris de 20 mmol/L, pH 8.2. Préservatif.
Latex (R2)	Particules de Latex enrobées de kid de la CRP antihumaine IgG CRP, pH 7.3. Préservatif.
U-CRP CAL	Le calibrateur liquide de la concentration de la protéine réactive C figure sur l'étiquette du flacon
Opcional	Ref. : 43036 CRP Ultra Contrôle

PRÉCAUTIONS

Les composantes d'origine humaine ont été essayées et jugées négatives pour les HBsAg, HCV, et l'anticorps au VIH (1/2). Cependant, il faut les manipuler avec prudence car ils sont potentiellement infectieux

CALIBRATION

Use CRP Ultra Calibrator Reference 43036.

La sensibilité du dosage et la valeur cible du calibrateur ont été standardisées suivant la référence matérielle ERM-DA 474 de l'IFCC.

La calibration dans le marqueur de SPINLAB 180 est stable pendant 1 mois.

Recalibrer lorsque les résultats du contrôle sont libres de toute tolérance déterminée au moment où beaucoup de réactifs sont utilisés et l'instrument est réglé.

PRÉPARATION
Calibrateur CRP: Liquide, prêt à être utilisé.

Course de calibration : Préparer les dilutions suivantes du calibrateur de la CRP dans le NaCl 9 g/L. Multiplier la concentration du calibrateur de la CRP par le facteur correspondant qui figure dans le tableau ci-dessous afin d'obtenir la concentration de la CRP pour chaque dilution.

Dilution du calibrateur	1	2	3	4	5	6
Calibrateur PCR-u (µL)	--	5	10	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	95	90	75	50	--
Facteur	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1,0

CONSERVATION ET STABILITÉ

Toutes les composantes du kit sont stables jusqu'à l'expiration de la date qui figure sur l'étiquette lorsqu'elles sont conservées hermétiquement à 2-8°C et les contaminations sont empêchées lors de leur utilisation. Les réactifs ne doivent pas être laissés à l'intérieur de l'analyseur après utilisation; conserver au réfrigérateur à 2-8 ° C. Le latex peut sédimenter. Agitez doucement les réactifs avant utilisation. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date d'expiration.

Ne pas geler ; le Latex gelé ou le Diluant peuvent modifier la fonctionnalité de l'essai.

Détérioration du réactif: Présence de particules (R1, R2) et turbidité (R1).

ÉQUIPEMENTS SUPPLÉMENTAIRES

- Bain thermostatique à 37 °C.

- Spectrophotomètre ou photomètre thermostatable à 37 °C avec un filtre à 540 nm (530 – 550 nm).

ÉCHANTILLONS

Sérum frais. Stable pendant 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons qui contiennent la fibrine doivent être centrifugés avant l'essai.

Ne pas utiliser des échantillons hémolysés ou lipidémiques.

PROCÉDURE

1. Ramener les réactifs et le photomètre (portoir à cuves) à 37°C.

2. Conditions du dosage:

Longueur d'onde: 540 nm (530-550)

Température: 37°C

Raie spectrale du portoir: 1 cm

3. Régler l'instrument à zéro à l'aide de l'eau distillée.

4. Pipette dans le portoir:

R1. Diluant (mL)	0,8
R2. Latex (mL)	0,2

5. Mélangez et lisez l'absorbance (blanc réactif).

6. Ajoutez l'échantillon / l'étalon.

	Blanc	Échantillon / étalon
NaCl 9 g/L (µL)	10	--
Étalon ou échantillon (µL)	--	10

 7. Mélangez et lisez l'absorbance 4 minutes après (A₂) avoir ajouté l'échantillon / l'étalon.

Les instructions destinées à beaucoup d'analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.
CALCULS

 Calculez la différence d'absorbance (A₂-A_{blanc}) de chaque point de la courbe d'étalonnage et tracez les valeurs obtenues de la concentration en CRP de chaque dilution de l'étalon. La concentration de CRP dans l'échantillon est calculée par interpolation de son (A₂-A_{blanc}) sur la courbe d'étalonnage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les contrôles des sérums sont recommandés pour suivre la performance du dosage Le contrôle CRP Ultra de SPINREACT (Ref.:43036) doit être utilisé.

Chaque laboratoire doit établir son propre système de contrôle de la qualité et des actions correctives au cas où les contrôles n'atteignent pas les tolérances admises.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Sous 3 mg/L, elle est considérée comme normale.

Chaque laboratoire doit établir sa propre page de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA METHODE
Limite de linéarité : Jusqu'à 10 mg/L, dans les conditions d'essai décrites. Les échantillons ayant de plus hautes concentrations doivent être dilués dans les proportions 1/3 dans du NaCl 9 g/L et testés de nouveau. La limite de linéarité dépend du rapport échantillon /réactif. Elle sera plus élevée en diminuant le volume d'échantillon, bien que la sensibilité de l'essai diminuera proportionnellement.

Limite de détection: Des valeurs inférieures à 0,05 mg/L donnent des résultats qui ne sont pas reproductibles.

Effet prozone: aucun effet prozone n'était détecté en dessous de 800mg/L.

Sensibilité: Δ 44 mA.mg/L.

Precision: The reagent has been tested for 20 days, using three different CRP concentrations in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	+/- 0,28 mg/L	+/- 3,09 mg/L	+/- 5,95 mg/L
Total	7,7%	2,7%	3,0%
Sur une goutte	4,5%	1,7%	1,4%
Entre la goutte	4,7%	1,9%	2,7%
Entre le jour	4,1%	0,7%	0,0%

Exactitude : Les résultats obtenus grâce à ce réactif (y) étaient comparés à ceux qui ont été obtenus à l'aide d'un réactif commercial (x) avec des caractéristiques semblables. 23 échantillons de différentes concentrations de la CRP étaient essayés. La corrélation avec le coefficient (r) était de 0,99 et l'équation de régression y=1,0028x - 0,0625.

Les résultats des caractéristiques de rendement dépendent de l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

 La bilirubine (20 mg/dL), la lipémie (5 g/L), et l'hémoglobine (5 g/L) n'interfèrent pas. Les autres substances peuvent s'ingérer².

NOTES:

Les diagnostics cliniques doivent être effectués sur les découvertes d'un seul résultat de l'essai, mais doivent intégrer à la fois les données cliniques et celles du laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Thomas A et al. IVD Technology 2000; March/April: 27-35.
2. Macy E M et al. Clinical Chemistry 1997; 43: 52-58.
3. Pearson TA et al. Circulation 2003;107:499-511.
4. Haverkate F et al. Fibrinolysis and Proteolysis 1007; 11: 1331-134.
5. Ronald D et al. Journal of Clinical Ligand Assay 1997; 313-315.
6. Ridker PM et al. The New England Journal of Medicine 2000; 23: 836-843.
7. Koenig W et al. Circulation 1999; 99: 237-242.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRÉSENTATION

Réf: 43134

Cont.

R1. Diluant: 1 x 40 mL

R2. Latex: 1 x 10 mL

U-CRP CAL: 1 x 2 mL

CRP-ultra turbilatex

Turbidimetria do látex

Determinação quantitativa de baixos níveis da Proteína C-Reativa IVD

Armazenar a 2-8°C.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

O teste CRP-ultrassensível é um ensaio imunoturbidimétrico quantitativo para a determinação de níveis baixos de proteína C-reativa (CRP) no soro humano ou plasma.

As partículas de látex revestidas com anticorpos CRP anti-humanos são aglutinadas quando misturadas com amostras que contenham CRP. A aglutinação provoca uma mudança na absorvância, dependente dos conteúdos CRP da amostra do paciente que possam ser quantificados por comparação em relação a um calibrador de concentração CRP conhecido.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A CRP é uma proteína de fase aguda presente no soro normal, a qual aumenta significativamente após a maioria das lesões nos tecidos, infecções bacterianas ou virais, inflamação e neoplasia maligna. A CRP pode também ser útil na detecção do processo aterosclerótico e fornecer informações de prognóstico importantes sobre os doentes com doença cardíaca assintomática, angina instável e enfarte do miocárdio. Estudos recentes em indivíduos aparentemente saudáveis, mostraram que a concentração de CRP no soro aumenta muito antes do aparecimento dos sintomas normais de doença cardíaca e vascular.

REAGENTES

Diluyente (R1)	Tris tampão 20 mmol/L, pH 8.2. Conservante.
Látex (R2)	Partículas de látex revestidas com CRP anti-humano IgG caprino, pH 7.3. Conservante.
U-CRP CAL	Calibrador líquido. A concentração de proteína C-Reativa é indicada na etiqueta do frasco.
Opcional	Ref.:43036 CRP Ultra Control

PRECAUÇÕES

Os componentes de origem humana foram testados e tiveram resultados negativos para HBsAg, VHC e anticorpos para o VIH (1/2). Contudo, manusear com cuidado, como potencialmente infeccioso.

CALIBRAÇÃO

Utilize o Calibrador CRP incluído no kit (Ref. 43035).

A sensibilidade do ensaio e o valor alvo do calibrador foram estandardizados em relação ao Material de Referência ERM-DA 474 do IFCC.

A calibração do SPINLAB 180 é estável durante 1 mês.

Recalibrar quando os resultados do controlo saem das tolerâncias especificadas, ao utilizar um lote diferente de reagentes ou quando o instrumento é ajustado.

PREPARAÇÃO

Calibrador CRP: Reagentes líquidos prontos a utilizar.

Curva de calibração: Preparar as seguintes diluições de calibrador CRP em NaCl 9 g/L. Multiplicar a concentração do calibrador CRP pela fator correspondente indicado na tabela abaixo para obter a concentração de CRP de cada diluição.

Diluição do Calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador PCR-u (µL)	--	5	10	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	95	90	75	50	--
Fator	0	0.05	0.1	0.25	0.5	1.0

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade que consta da etiqueta quando armazenados bem fechados a 2-8°C e as contaminações são evitadas durante a sua utilização. Os reagentes não devem ser deixados dentro do analisador após o uso; mantenha refrigerado a 2-8°C. O látex pode sedimentar. Agite suavemente os reagentes antes de usar. Não utilizar os reagentes após passar o prazo de validade.

Não congelar. O Látex ou Diluyente congelados podem alterar a funcionalidade do teste.

Reagente de degradação: Presença de partículas (R1, R2) e turbidez (R1).

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Banho termostático a 37 °C.

- Espectrofotómetro ou fotómetro termoestável a 37 °C com um filtro de 540 nm (530-550).

AMOSTRAS

Soro fresco. Estável durante 7 dias a 2-8°C ou 3 meses a -20°C.

As amostras com a presença de fibrina devem ser centrifugadas antes dos testes.

Não utilizar amostras altamente hemolisadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

1. Colocar os reagentes e o fotómetro (suporte de cuvetes) a 37°C.

2. Condições dos ensaios:

Comprimento de onda: 540 nm (530-550)

Temperatura: 37°C

Passo de luz da cuvette: 1 cm

3. Ajustar o instrumento para zero com água destilada.

4. Pipeta numa cuvette:

R1. Diluyente (mL)	0,8
R2. Latex (mL)	0,2

5. Misture e ler a absorvância (Reagente Branco).

6. Adicione a amostra/ calibrador.

	Branco	Amostra/Calibrador
NaCl 9 g/l (µl)	10	--
Calibrador ou amostra (µl)	--	10

7. Misture e leia a absorvância 4 minutos (A_2) após adição da amostra/calibrador.

As instruções para muitos analisadores automáticos estão disponíveis mediante pedido.

CÁLCULOS

Calcule a diferença de absorvância ($A_2 - A_{branco}$) de cada ponto da curva de calibração e faça um gráfico com os valores obtidos comparando-os com a concentração CRP da diluição de cada calibrador. A concentração CRP na amostra é calculada por interpolação da sua ($A_2 - A_{branco}$) na curva de calibração.

CONTROLO DE QUALIDADE

São recomendados soros de controlo para monitorizar o desempenho dos ensaios.

Deve ser utilizado o controlo CRP Ultra (Ref.: 43036) da SPINREACT.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA

Abaixo de 3 mg/L é considerado normal.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Limite de linearidade: Até 10 mg/L, nas condições descritas do teste. As amostras com concentrações mais elevadas devem ser diluídas na proporção de 1/3 em NaCl 9 g/L e testadas novamente. O limite de linearidade depende da relação amostra:reagente. Será maior diminuindo o volume de amostra, embora a sensibilidade do teste diminua proporcionalmente.

Limite de deteção: Valores inferiores a 0,05 mg/L dão resultados não reprodutíveis.

Efeito prozona: Não foi detetado qualquer efeito prozona abaixo de 800 mg/L.

Sensibilidade: Δ 44 mA.mg/L.

Precisão: O reagente foi testado durante 20 dias, utilizando três concentrações CRP distintas num estudo com base EP5 de CLSI.

EP5	CV (%)		
	+/- 0,28 mg/L	+/- 3,09 mg/L	+/- 5,95 mg/L
Total	7,7%	2,7%	3,0%
Within Run	4,5%	1,7%	1,4%
Between Run	4,7%	1,9%	2,7%
Between Day	4,1%	0,7%	0,0%

Precisão: Os resultados obtidos utilizando este reagente (y) foram comparados com os obtidos utilizando um reagente comercial (x) com características semelhantes. Foram testadas 23 amostras de concentrações de CRP. O coeficiente de correlação (r) foi de 0,99 e a equação de regressão $y = 1,0028x - 0,0625$.

Os resultados das características de desempenho dependem do analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina (20 mg/dL), a lipémia (5 g/L), e a hemoglobina (5 g/L), não interferem. Outras substâncias poderão interferir⁷

NOTAS

Não devem ser feitos diagnósticos clínicos com base nas descobertas do resultado de um único teste, mas devem integrar dados clínicos e laboratoriais.

BIBLIOGRAFIA

1. Thomas A et al. IVD Technology 2000; March/April: 27-35.
2. Macy E M et al. Clinical Chemistry 1997; 43: 52-58.
3. Pearson TA et al. Circulation 2003;107:499-511.
4. Haverkate F et al. Fibrinolysis and Proteolysis 1007; 11: 1331-134.
5. Ronald D et al. Journal of Clinical Ligand Assay 1997; 313-315.
6. Ridker PM et al. The New England Journal of Medicine 2000; 23: 836-843.
7. Koenig W et al. Circulation 1999; 99: 237-242.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACCC Press, 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref: 43134 Cont. R1. Diluyente: 1 x 40 mL
R2. Látex: 1 x 10 mL
U-CRP CAL: 1 x 2 mL