

COD 31927 1 x 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reactivos para medir la concentración de PCR Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico

C-REACTIVE PROTEIN-hs (CRP-hs)



PROTEINA C-REACTIVA (PCR-hs)
LATEX-ALTA SENSIBILIDAD

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La proteína C-reativa (PCR) sérica provoca una aglutinación de las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-proteína C-reativa humana. La aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de PCR y puede ser cuantificada por turbidimetría¹.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. 1 x 40 mL. Tampón glicina 0,1 mol/L, azida sódica 0,95 g/L, pH 8,6.
B. Reactivo. 1 x 10 mL. Suspensión de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos anti-PCR humana, azida sódica 0,95 g/L.
S. Patrón de PCR-hs. Para 1 x 5 mL. Suero humano. La concentración de proteína C-reativa viene indicada en la etiqueta del vial. El valor de concentración es trazable al material de referencia BCR 470 (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

El suero humano utilizado en la preparación del patrón era negativo para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, el patrón debe tratarse con precaución como potencialmente infeccioso.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: absorbancia del reactivo de trabajo superior a 1,600 a 540 nm.
- Patrón: Presencia de humedad.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Vaciar el contenido de un vial de Reactivo B en un frasco de Reactivo A (Nota 1). Homogeneizar. Estable 20 días a 2-8°C.

Si se desea preparar volúmenes menores, mezclar en la proporción: 1 mL de Reactivo B + 4 mL de Reactivo A. Agitar el Reactivo B antes de pipetear.

Patrón de PCR-hs (S): Reconstituir el liofilizado con 5,0 mL de agua destilada. Estable 1 mes a 2-8°C.

Curva de Calibración: Preparar diluciones del Patrón de PCR-hs empleando solución salina 9 g/L como diluyente. Multiplicar la concentración del Patrón de PCR-hs por el factor correspondiente indicado en la tabla, para obtener la concentración de PCR-hs de las diluciones (Nota 2).

DILUCION	1	2	3	4	5
Patrón de PCR-hs (µL)	10	20	40	60	80
Sol. salina (µL)	70	60	40	20	—
Factor	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

EQUIPO ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 540 ± 20 nm

MUESTRAS

Suero recogido mediante procedimientos estándar.

La proteína C-reativa es estable 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a 37°C.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada (Nota 3).
3. Pipetear en una cubeta:

Reactivo de Trabajo	1,5 mL
Agua (Blanco), Patrón (S) o Muestra	20 µL

4. Mezclar e insertar la cubeta en el instrumento. Poner el cronómetro en marcha.
5. Leer la absorbancia a 540 nm a los 10 segundos (A₁) y a los 5 minutos (A₂).

CÁLCULOS

Curva de Calibración: Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ – A₁) de cada punto de la curva de calibración y representar los valores hallados frente a las concentraciones de PCR-hs. La concentración de PCR-hs en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia de absorbancias (A₂ – A₁) en la curva de calibración.

VALORES DE REFERENCIA

Suero²⁻³:

Hombres		Mujeres	
5-13 años	< 1,45 mg/L	5-18 años	< 1,90 mg/L
14-18 años	< 2,13 mg/L	19-49 años	< 3,33 mg/L
19-39 años	< 2,68 mg/L	50-64 años	< 8,50 mg/L
40-49 años	< 4,80 mg/L	65-99 años	< 6,60 mg/L
50-64 años	< 7,90 mg/L		
65-99 años	< 6,80 mg/L		

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control de Proteínas niveles I (Cod. 31211) y II (Cod. 31212) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 0,06 mg/L
- Intervalo de medida: 0,06-15 mg/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/5 con agua destilada y repetir la medición (Nota 4)
- Repetibilidad (intra-serie):

Concentración media	CV	n
1,4 mg/L	1,8 %	20
7,2 mg/L	1,5 %	20

- Reproducibilidad (inter-serie):

Concentración media	CV	n
1,4 mg/L	3,6 %	25
7,2 mg/L	3,0 %	25

- Sensibilidad: 60 mA-L/mg a 5 mg/L.
- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Fenómeno de zona: La técnica no presenta fenómeno de zona a concentraciones < 500 mg/L.
- Interferencias: la lipemia (triglicéridos 10 g/L), la hemólisis (hemoglobina 10 g/L) no interfieren. La bilirrubina (>10 mg/dL) y el factor reumatoide (>75 UI/mL) pueden interferir. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁴.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La Proteína C-reativa (PCR), sintetizada en el hígado, es uno de los reactantes de fase aguda más sensibles. La PCR activa la vía clásica del complemento en respuesta a la reacción inflamatoria.

Los niveles en suero aumentan enormemente en infarto de miocardio, estrés, traumatismos, infecciones, inflamaciones, intervenciones quirúrgicas y en procesos neoplásicos. El aumento de la PCR de hasta 2000 veces superior al normal se produce en las primeras 24-48 horas, aunque dicho aumento no es específico⁵.

Aunque la PCR tradicionalmente se ha utilizado para monitorizar o detectar procesos inflamatorios agudos, en diferentes estudios se ha puesto de manifiesto elevaciones de su concentración dentro del intervalo de referencia convencional. En estos estudios se ha demostrado la utilidad de la PCR de alta sensibilidad (PCR-hs) como factor independiente en la predicción del riesgo en enfermedades cardíacas y vasculares. Concentraciones mayores de 10 mg/L, generalmente ponen de manifiesto la existencia de otro tipo de proceso inflamatorio⁶⁻⁷.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

1. Homogeneizar el Reactivo B con suavidad antes de verterlo en el frasco de Reactivo A. Es conveniente lavar el vial de Reactivo B con una pequeña cantidad de la mezcla preparada, con el fin de arrastrar los restos que queden en las paredes del vial.
2. La curva de calibración es lineal hasta 10 mg/L en algunos instrumentos. En estos casos la calibración puede realizarse con un único patrón de 5,0 mg/L. Si se precisa una mayor exactitud, utilizar la curva de calibración multipuntual.
3. Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.
4. El límite de linealidad depende de la relación de muestra/reactivo. Aumenta reduciendo el volumen de muestra, aunque la sensibilidad del ensayo disminuirá proporcionalmente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Price CP, Trull AK, Berry D, Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. *J Immunol Methods* 1987; 99: 205-211
2. Chenilrot O, Henny J, Steinmetz J, Herbeth B, Wagner C, Siest G. High-sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 1003-11
3. Herbeth B, Siest G, Henny J. High-sensitivity C-reactive protein (CRP) reference intervals in the elderly. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 1169-70
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1995
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997
6. Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000; 46: 461-8
7. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem* 2001; 47: 418-25