

CRP at **PCR***Método turbidimétrico*REF 3175005  
1 x 50 mL**CONTENIDO**R1. Reactivo 1 x 40 mL  
R2. Reactivo 1 x 10 mL  
CAL. Calibrador 1 x 3 mLSólo para uso diagnóstico *in vitro***FUNDAMENTO**

PCR at es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de PCR en suero o plasma humano.

Los anticuerpos anti-PCR humana forman inmunocomplejos con la PCR presente en la muestra del paciente, ocasionando una dispersión de luz proporcional a la concentración de PCR y que puede cuantificarse por comparación con un calibrador de concentración conocida:

Dilución	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16
NaCl 9 g/L (µL)	--	200	200	200	200
PCR Cal. (µL)	400	200	200	200	200
	Mezclar y transferir				
Factor	1,0	0,5	0,25	0,125	0,0625

Calibrador 0 µg/L: NaCl 9 g/L.

**COMPOSICION DE LOS REACTIVOS****R1** **Diluyente.** Tampón tris, 20 mmol/L /PEG; pH 8,2.**R2** **Anticuerpo.** IgG de cabra anti PCR humana, tris 20 mmol/L pH 8,2.**CAL** **Calibrador.** (Ref.: 3931705) Suero humano. La concentración de PCR esta indicada en la etiqueta del vial y es trazable al Material de Referencia Certificado ERM DA472 (IRMM).

**Precauciones:** Los reactivos del kit contienen azida sódica 0,95 g/L. Evitar contacto con piel y mucosas.

Los componentes del kit de origen humano han dado resultado negativo frente a anticuerpos de HIV 1/2, HBsAg y anti-HCV. Sin embargo se recomienda tomar precauciones durante su uso.

**PREPARACION DE LOS REACTIVOS****R1** Listo para su uso.**R2** Listo para su uso.**CAL** Listo para su uso.**ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**

1. Todos estos reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen bien cerrados a 2-8°C y se evita la contaminación durante su uso. No usar los reactivos una vez caducados.
2. Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas, turbidez o blanco de reactivo a 340 nm > 0.3 es signo de deterioro.

**PREPARACION DE REACTIVOS**

Preparar diluciones dobles del Calibrador de PCR en NaCl 9 g/L. Para obtener el valor de Concentración de PCR de cada calibrador, multiplicar la concentración del Calibrador por el factor de dilución indicado en la tabla siguiente.

**MUESTRAS**

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

Centrifugar las muestras con restos de fibrina antes de usar. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

**EQUIPO ADICIONAL**

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 340 ± 20 nm.
- Cubetas con 1-cm de paso de luz.
- Pipetas automáticas para medir reactivos y muestras.

**TECNICA****Procedimiento preliminar**

Precalentar los Reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37 °C.

**Procedimiento analítico**

1. Ajustar el cero del instrumento a 340 nm con agua destilada.
2. Pipetear en una cuveta:

Diluyente (R1)	0.8 mL
Muestra / Calibrador	40 µL

3. Mezclar e insertar la cubeta en el fótometro. Leer la absorción inmediatamente ( $A_1$ )

4. Pipetear en la cubeta

Anticuerpo (R2)	0.2 mL
-----------------	--------

5. Mezclar bien y leer la absorbancia a los 4 minutos ( $A_2$ ) de la adición de la muestra / calibrador.



## CÁLCULOS

Calcular la diferencia (A):  $(A) = (A_2) - (A_1)$

Representar gráficamente los valores de (A) obtenidos frente a todas las concentraciones de PCR de cada dilución del calibrador. La concentración de PCR de la muestra se calcula por interpolación de su valor (A) en la curva de calibración.

## CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control Plasma Protein Control N-I (ref: 3915010) y N-II (ref: 3915015) para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático.

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<sup>3,7,8</sup>

Adultos: hasta 5 mg/L.

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

## SIGNIFICADO CLÍNICO<sup>1-4</sup>

La PCR es una proteína presente en sueros normales que sufre incrementos significativos como resultado de lesiones tisulares, infecciones bacterianas o virales y procesos neoplásicos. Durante los procesos necróticos tisulares y la inflamación como respuesta a las infecciones microbianas, la concentración de PCR puede aumentar hasta 300 mg/L en 12-24 horas.

## CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS (Nota 1)

- **Límite de linealidad:** Hasta 250 mg/L, en las condiciones descritas del ensayo (Nota 2). Muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 en NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo.

- **Límite de detección:** Valores por debajo de 0,5 mg/L dan lugar a resultados poco reproducibles.

- **Sensibilidad analítica:** 2,8 mA/mg PCR/L.

- **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 2500 mg/L.

- **Precisión:**

	PCR (mg/L)	CV (%)
Intra-ensayo N = 10	11,9	2,9
	25,1	1,0
	75,8	1,9
Inter-ensayo N = 10	11,9	5,5
	25,1	4,7
	75,8	4,7

- **Exactitud:** Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias significativas cuando se comparan con reactivos de características similares. Los detalles de la comparación están disponibles bajo solicitud.

- **Interferencias:** La bilirrubina (40 mg/dL), la hemoglobina (4 g/L), la lipemia\* (1 g/L) y los factores reumatoideos (1100 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir<sup>9</sup>.

\* Intralipid fabricado por KabiVitrum Inc, es una emulsión de lípidos IV al 20% que se emplea para simular muestras turbias.

No existe una coincidencia satisfactoria entre la turbidez y la concentración de triglicéridos.

## NOTAS

1. Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.
2. La linealidad del ensayo depende de la relación muestra/reactivo y analizador utilizado. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.
3. 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.

## REFERENCIAS

1. Hansson LO, Lindquist L. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 10 : 196 (1997).
2. Hokama Y, Nakamura RM. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 1 : 15 (1987).
3. Kindmark C-O. *Sacnd. J. Clin. Lab. Invest.* 29 : 407 (1972).
4. Le Carrer D, Giraud F, Siramy M, Bataille R. *Feuillets de Biologie*. 34: 39 (1995).
5. Vaishnavi C. *Immunology & Infectious Diseases*. 6: 139 (1996).
6. Winkles J, Lunec J, Deverill I. *Clin Chem*. 33: 685 (1987).
7. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3<sup>rd</sup> Ed. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., (1999).
8. Adam A, Ers P, Herman G, Stas JL. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem*. 23: 787 (1985).
9. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 3th ed. AACCC Press (1997).

