

PCR Ultrasensible MonlabTest®
Turbidimetría Látex



Determinación cuantitativa de niveles bajos de Proteína C-Reactiva
Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

PCR-Ultrasensible MonlabTest 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	PCR Ultra Control (MO-165060)

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 tenerse con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACIÓN

Usar el Calibrador PCR ultra MonlabTest (MO-165059). La sensibilidad de los reactivos y el valor de concentración del Calibrador están estandarizadas frente al Material de Referencia ERM-DA 474/IFCC. 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 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 y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 540 nm (530-550).

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.

Monlab dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de los analizadores automáticos del mercado.

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 CRP Ultra MonlabTest (MO-165060). 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 efecto prozona hasta valores de 800 mg/L.
Sensibilidad: Δ44 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. AACCC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

MO-165034 R1: 1 x 40 mL
R2: 1 x 10 mL
CRP ULTRA CAL: 1 x 2 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad

CRP Ultrasensitive MonlabTest®
Latex Turbidimetry.



Quantitative determination of low levels of C-Reactive Protein

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 2-8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The CRP-ultrasensitive MonlabTest 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	CRP Ultra Control (MO-165060)

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 MonlabTest (MO-165059). The sensitivity of the assay and the target value of the calibrator have been standardized against the Reference Material ERM-DA 474/IFCC. 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. 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 and turbidity.

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 lighth 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 (A₂) of the sample/ calibrator addition. **MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference (A₂-A_{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 (A₂-A_{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 CRP Ultra Control MonlabTest (MO-165060). 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: Δ44 mA/mg/L.

Precision: The reagent has been tested for 20 days, using three different CRP concentrations in an 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

MO-165034
R1: 1 x 40 mL
R2: 1 x 10 mL
Ultra CRP Calibrator: 1 x 2 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by