

### Intended Use

**CardioPhase\* hsCRP** is an *in vitro* diagnostic reagent for the quantitative determination of C-reactive protein (CRP) in human serum, and heparin and EDTA plasma by means of particle enhanced immunonephelometry using BN\* Systems. In acute phase response, increased levels of a number of plasma proteins, including C-reactive protein, is observed. Measurement of CRP is useful for the detection and evaluation of infection, tissue injury, inflammatory disorders and associated diseases. High sensitivity CRP (hsCRP) measurements may be used as an independent risk marker for the identification of individuals at risk for future cardiovascular disease. Measurements of hsCRP, when used in conjunction with traditional clinical laboratory evaluation of acute coronary syndromes, may be useful as an independent marker of prognosis for recurrent events, in patients with stable coronary disease or acute coronary syndromes.

### Summary and Explanation

CRP is one of the 'acute-phase' proteins, the serum or plasma levels of which rise during general, nonspecific response to infectious and non-infectious inflammatory processes. CRP is synthesized in the liver and is normally present as a trace constituent of serum or plasma.

In various disease states resulting in tissue injury, infection or acute inflammation, CRP values may rise above normal to 20 to 500 mg/L<sup>1</sup>. As elevated CRP values are always associated with pathological changes the CRP assay provides useful information for the diagnosis, therapy and monitoring of inflammatory processes and associated diseases<sup>2,3,4</sup>. Increases in CRP values are non-specific and should not be interpreted without a complete clinical history. Studies have shown that measurement of CRP by high sensitivity assays is a strong independent predictor of risk for future cardiovascular and peripheral vascular diseases<sup>5</sup>. High sensitivity CRP measurements have also been shown to add to the predictive value of other markers used to assess the risk of cardiovascular and peripheral vascular disease<sup>6,7,8</sup>. Elevated CRP values determined by high sensitivity CRP assays may be indicative of the prognosis of individuals with acute coronary syndromes, and may be useful in the management of such individuals<sup>9</sup>.

### Principle of the Method

Polystyrene particles coated with monoclonal antibodies specific to human CRP are aggregated when mixed with samples containing CRP. These aggregates scatter a beam of light passed through the sample. The intensity of the scattered light is proportional to the concentration of the relevant protein in the sample. The result is evaluated by comparison with a standard of known concentration. The assigned value of CRP in N Rheumatology Standard SL is standardized against the international reference preparation BCR - CRM 470<sup>10,11</sup>.

### Reagents

#### Materials provided

**CardioPhase\* hsCRP Reagent, Code No. OQIY**

Five vials containing 5 mL each or three vials containing 2 mL each

#### Composition

**CardioPhase\* hsCRP Reagent** consists of a suspension of polystyrene particles coated with mouse monoclonal antibodies to CRP.

#### Preservatives:

**CardioPhase\* hsCRP Reagent:** Gentamicin 6.25 mg/L, Amphotericin 0.625 mg/L

#### Warnings and Precautions

- For *in vitro* diagnostic use.
- Each individual blood donation intended for use in the manufacture of the **CardioPhase\* hsCRP Reagent** was tested for HBSAg, anti-HCV, anti-HIV1 and anti-HIV2 by FDA required testing. Only donations with negative findings were used for manufacture. Nevertheless, since absence of infectious agents cannot be proven, all materials obtained from human tissue or body fluids should always be handled with due care, observing the precautions recommended for biohazardous material<sup>11</sup>.

#### Preparation of the Reagent

The **CardioPhase\* hsCRP Reagent** is ready-for-use as supplied, shake gently before first use.

#### Storage and Stability

**Shelf life at +2 to +8 °C:**

See expiry date on the label.

#### Stability once opened:

Four weeks if stored at +2 to +8 °C securely capped immediately after use; do not freeze.

#### On-board stability:

A minimum of five days, at eight hours per day, or comparable period of time.

**Note:** On-board stability may vary, depending on the BN\* System used and laboratory conditions. For further details, refer to the BN\* II and BN ProSpec® System Instruction Manual.

#### Materials Required but not Provided

BN\* System

N Rheumatology Standard SL, Code No. OQKZ

N/T Rheumatology Controls SL/1 and SL/2, Code Nos. OQDB and OQDC

Apolipoprotein Control Serum CHD, Code OUPH

N Supplementary Reagent/Precipitation, Code No. OUMU

N Diluent, Code No. OUMT

BN\* II Evaporation Stoppers (optional), Code No. OVLE

Additional materials and supplies as described in your BN\* System Instruction Manual.

#### Specimens

Suitable samples are human serum as well as heparin and EDTA plasma, either as fresh as possible (stored for no more than eight days at +2 to +8 °C) or stored frozen. Samples can be stored at below -20 °C for up to eight months, if they are frozen within 24 hours after collection and if repeated freeze-thaw cycles are avoided. Serum samples must be completely coagulated and, after centrifugation, must not contain any particles or traces of fibrin. Lipemic samples, or frozen samples, which become turbid after thawing, must be clarified by centrifugation (10 minutes at approximately 15,000 x g) prior to testing.

#### Procedure

Notes:

- Consult your BN\* System Instruction Manual for details regarding operation of the instrument.
- Allow reagents and samples to equilibrate to room temperature (+15 to +25 °C) before use on the BN\* 100 System. With a BN\* II or BN ProSpec® System reagents and samples stored at +2 to +8 °C can be used immediately.
- On the BN\* 100 System, samples should be run at approximately the same ambient temperature (maximum 3 °C deviation) as the measurements used for recording the reference curve.

#### Assay Protocols on the BN\* Systems

The assay protocols, for serum as well as plasma, are given in the BN\* System Instruction Manual and software of the instrument. All steps are performed automatically by the system.

#### Establishment of the Reference Curve

Reference curves are generated by multi-point calibration. Serial dilutions of N Rheumatology Standard SL are automatically prepared by the instrument using N Diluent. The standard dilutions are to be used within four hours. The reference curve is valid for four weeks and can be used beyond this period of time, as long as controls with corresponding method depending target values, e.g., N/T Rheumatology Controls SL/1 and SL/2 or Apolipoprotein Control Serum CHD, are reproduced within their respective confidence interval. If a different lot of reagent is used, a new reference curve must be generated. The exact measuring range depends upon the concentration of the protein in each lot of N Rheumatology Standard SL. For typical ranges refer to your BN\* System Instruction Manual.

#### Assay of Specimens

Samples are automatically diluted 1:400 (CRP1) or 1:20 in the **CardioPhase\* hsCRP** assay protocol (CRP2) with N Diluent. The diluted samples must be used within four hours. If the results obtained are outside the measuring range, the assay can be repeated using a higher or lower (only in the CRP1 assay protocol) dilution of the sample. Refer to the BN\* System Instruction Manual for information on repeat measurements using other dilutions.

#### Internal Quality Control

Assay N/T Rheumatology Controls SL/1 and SL/2 or Apolipoprotein Control Serum CHD after each establishment of a reference curve, the first use of a reagent vial as well as with each run of samples. The controls are to be assayed and evaluated as for patient samples. The assigned value and the confidence interval are listed in the Table of Assigned Values of the respective control. If a control value is outside the confidence interval, the determination must be repeated. If the repeated determination confirms the deviation, a new reference curve should be established. Do not release patient results until the cause of the deviation has been identified and corrected.

### Results

The results are evaluated automatically by the analyzer and are represented in mg/L or in a unit selected by the BN\* System user.

### Limitations and Interferences

Turbidity and particles in the samples may interfere with the determination. Therefore, samples containing particles must be centrifuged prior to testing. Lipemic or turbid samples, which cannot be clarified by centrifugation (10 minutes at approximately 15,000 x g), must not be used.

No interference was observed from bilirubin up to 600 mg/L, free hemoglobin up to 10 g/L and triglycerides up to 16 g/L.

Patient samples may contain heterophilic antibodies that could react in immunoassays to give a falsely elevated or depressed result. This assay has been designed to minimize interference from heterophilic antibodies. Nevertheless, complete elimination of this interference from all patient specimens cannot be guaranteed. Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.

Due to matrix effects, inter-laboratory survey samples and control samples may yield results that differ from those obtained with other methods. It may therefore be necessary to assess these results in relation to method specific target values.

### AHA/CDC Expert Panel Recommendations<sup>5</sup>:

hsCRP levels should not be substituted for assessment of traditional cardiovascular risk factors. Application of management guidelines for acute coronary syndromes should not be dependent on hsCRP levels.

In patients with stable coronary disease or acute coronary syndromes, hsCRP measurement may be useful as an independent marker of prognosis.

When using the assay for risk assessment, patients with persistently unexplained, marked elevation of hsCRP (>10 mg/L) after repeated testing should be evaluated for non-cardiovascular etiologies.

The expert panel recommends against screening of the entire adult population for hsCRP as a public health measure.

Patients with evidence of active infection, systemic inflammatory processes or trauma should not be tested for cardiovascular disease risk assessment until these conditions have abated.

Application of secondary prevention measures should not depend on hsCRP determination, but rather an array of risk factors (global risk assessment).

Serial measurements of CRP should not be used to monitor effects of treatment.

Two separate CRP measurements (optimally two weeks apart) should be obtained before performing risk assessment, due to within-subject CRP variability.

Measurement of hsCRP is an independent marker of risk.

hsCRP levels may be useful in motivating patients to improve lifestyle behaviors.

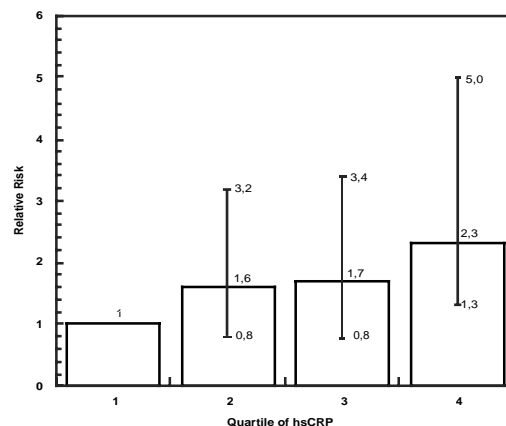
### Interpretation of Results

Recent medical events resulting in tissue injury, infection or inflammation, which may cause elevated CRP levels should also be considered when interpreting results.

### Cardiovascular and Peripheral Vascular Disease

#### Risk Assessment:

Several studies have examined the utility of hsCRP measurements for cardiovascular disease risk prediction. In a subset consisting of 280 individuals participating in the Physician's Health Study, baseline samples were tested for a number of biomarkers, including hsCRP. The population was followed for nine years to assess the development of peripheral arterial disease (PAD). The following graph shows the relative risk (95% confidence interval) of developing future PAD as a function of quartile of hsCRP<sup>12</sup>.



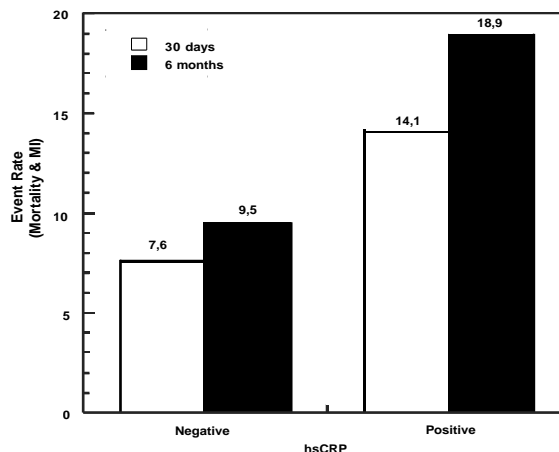
The AHA/CDC Scientific Statement<sup>6</sup> provides the following risk assessment guidelines:

Risk	hsCRP (mg/L)
Low	< 1.0
Average	1.0 - 3.0
High	> 3.0

### Risk Stratification:

For patients with acute coronary syndromes, measurement of hsCRP may provide prognostic information. A value of CRP > 10 mg/L in the early period (6 - 24 hours after onset of symptoms), has been shown to be indicative of an increased risk for short term (30 days - 1 year) recurrent cardiac events<sup>5</sup>.

A substudy of 447 patients in the CAPTURE trial examined the clinical implications of elevated levels of CRP for risk stratification in patients with unstable angina. As shown in the following graph, patients with a CRP > 10 mg/L experienced a higher event rate (mortality or MI) than patients with a CRP < 10 mg/L<sup>13</sup>.



## Reference Interval

Expected values for healthy individuals as noted in the literature are typically  $\leq 3$  mg/L<sup>15</sup>. The normal range of CRP in the serum of 2147 apparently healthy individuals using the **CardioPhase\* hsCRP Assay** was found to be<sup>16</sup>:

90%	1.69 mg/L
95%	2.87 mg/L

A subset of the Stanislas Cohort was examined in this study<sup>17</sup>. The cohort subset used consisted of 1151 males and 996 females ranging in age from 5 to 71 years. All participants were of European ancestry, and free of previously diagnosed serious and/or chronic diseases (such as cancer or cardiovascular disease) and excluded individuals taking anti-inflammatory drugs or antibiotics.

As CRP is a nonspecific indicator for a wide range of disease processes, and as the reference intervals are affected by many factors that may differ for each population studied, each laboratory should determine its own reference interval.

## Specific Performance Characteristics

### Sensitivity

The analytical sensitivity of the assay is determined by the lower limit of the reference curve and therefore depends upon the concentration of the protein in the N Rheumatology Standard SL. A typical limit of detection for CRP is 0.175 mg/L for measurements performed using a sample dilution of 1:20.

A coefficient of variation (CV) of 7.6% was observed from ten replicates of a sample containing 0.41 mg/L of CRP.

### Specificity

No cross-reactivity is known.

### Precision

Measurements with **CardioPhase\* hsCRP Reagent** yielded the following coefficients of variation (CV):

Precision			
CRP Concentration (mg/L)	Intra-assay (n=20 each) CV (%)	CRP Concentration (mg/L)	Inter-assay (n=10 each) CV (%)
0.5	3.1	0.5	2.5
1.1	3.8	1.3	3.8
2.1	3.4	2.1	2.1
15	4.0	14	2.6
26	2.3	24	3.9
62	4.4	56	5.7

### Method Comparison

71 serum samples with CRP concentrations of up to approximately 500 mg/L were analyzed in parallel using the **CardioPhase\* hsCRP Reagent** (y) and the N Latex CRP kit (x). Regression analysis yielded the following regression equation:

$$y = 0.95 + 1.43 \text{ mg/L} \cdot x$$

**Note:** The values cited for specific performance characteristics of the assay represent typical values and are not to be regarded as specifications for the **CardioPhase\* hsCRP assay**.

## Bibliography

1. Kushner I, Rzewnicki DL. The acute phase response: general aspects. *Baillieres Clin Rheumatol* 1994; 8: 513-30.
2. Dixon JS, Bird HA, Sitton NG et al. C-reactive protein in the serial assessment of disease activity in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheum* 1984; 13:39-44.
3. Hind CRH, Pepys MB. The role of serum C-reactive (CRP) measurement in clinical practice. *Int Med* 1984; 5:112-51.
4. van Leeuwen M, van Rijswijk MH. Acute phase proteins in monitoring of inflammatory disorders. *Baillieres's Clinical Rheumatology* 1994; 8:531-52.
5. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
6. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, et al. Plasma concentration of C-Reactive Protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation* 1998; 97:425-8.
7. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998; 97:2007-11.
8. Ridker PM, Rifai N, Rose L, et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347: 1557-65.
9. Baudner S, Bienvu J, Blirup-Jensen S, et al. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins. CRM 470. Brussels: Community Bureau of Reference, Commission of the European Communities. BCR Information, Reference Materials. 1993 report EUR 15243 EN (ISSN 1018-5593): 1-172
10. Whicher JT, Ritchie RF, Johnson AM, et al. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). *Clin Chem* 1994; 40:934-8.
11. U.S. Department of Health and Human Services CDC. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication (CDC) 93-8395; 1999; Section II; 8-16.
12. Graph adapted from Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001; 285: 2481-5.
13. Graph adapted from Heeschen C, Hamm C, Brummner J, et al. Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: A comparative analysis. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1535-42.
14. Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1121-7.
15. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997; 43: 52-8.
16. Cheniliot O, Henry J, Steinmetz J, et al. High sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38:1003-11.
17. Siest C, Visvikis S, Herbeth B, et al. Objectives, design and recruitment of a familial and longitudinal cohort for studying gene-environment interactions in the field of cardiovascular risk: the Stanislas cohort. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 35-42

BN ProSpec is a registered trademark of Dade Behring Marburg GmbH in the USA, in Germany and other countries.

\* BN and **CardioPhase** are trademarks of Dade Behring Marburg GmbH in the USA.

Dade Behring Marburg GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76  
D-35041 Marburg  
[www.dadebehring.com](http://www.dadebehring.com)

USA Distributor: Dade Behring Inc.  
Newark, DE 19714 U.S.A.



Edition March 2004

# CardioPhase\* hsCRP

## Anwendungsbereich

*In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von C-reaktivem Protein (CRP) in humanem Serum sowie Heparin- und EDTA-Plasma mittels partikelverstärkter Immun-Nephelometrie mit den BN\* Systemen. Bei der Akute-Phase-Reaktion werden bei einer Reihe von Plasmaproteinen, darunter CRP, erhöhte Konzentrationen beobachtet. Die Bestimmung von CRP ist von Nutzen bei der Erkennung und Bewertung von verschiedenen Infektionen, Gewebeschädigung und entzündlichen Prozessen mit damit verbundenen Erkrankungen.

CRP-Ergebnisse aus dem hochsensitiven Messbereich (hsCRP) können als unabhängiger Risikomarker zur Identifizierung von Personen mit dem Risiko für eine kardiovaskuläre Erkrankung dienen. In Verbindung mit herkömmlichen klinisch-chemischen Laborbefunden eines akuten Koronarsyndroms, kann die hsCRP-Bestimmung auch als unabhängiger prognostischer Hinweis für rezidivierende Ereignisse bei Patienten mit chronischer Koronarerkrankung oder akutem Koronarsyndrom dienen.

## Diagnostische Bedeutung

CRP gehört zu den sogenannten Akute-Phase-Proteinen, deren Serum- oder Plasmakonzentration im Verlauf einer generellen, unspezifischen Antwort auf infektiöse und nichtinfektiöse Entzündungsprozesse ansteigt. CRP wird von der Leber gebildet und ist als Spurenprotein in normalen Seren und Plasmen vorhanden. Verschiedene, durch Gewebeschädigung, Infektion oder Entzündung verursachte Krankheitsbilder können innerhalb von vier bis acht Stunden nach einem akuten Ereignis zu erhöhten CRP-Werten zwischen 20 und 500 mg/L führen<sup>1</sup>.

OQIY G21 E0542 (1771) CS 2

Da ein erhöhter CRP-Wert immer mit pathologischen Veränderungen verbunden ist, besitzt die CRP-Bestimmung einen hohen Aussagewert für die Diagnose, Therapie und Verlaufskontrolle von entzündlichen Prozessen und damit verbundenen Erkrankungen<sup>2,3,4</sup>. Erhöhte CRP-Werte sind unspezifisch und sollten daher nicht ohne vollständige klinische Krankengeschichte interpretiert werden. Studien haben gezeigt, dass die CRP-Messung mit hochsensitiven Testen ein starker, unabhängiger Indikator für das Risiko zukünftiger kardiovaskulärer und peripherer vaskulärer Erkrankungen ist<sup>5</sup>. Die Bestimmung von hsCRP verstärkt auch die Aussagekraft anderer Marker bei der Einschätzung des Risikos von kardiovaskulären und peripheren vaskulären Erkrankungen<sup>7,8</sup>. Mit hsCRP Assays bestimmte erhöhte CRP-Werte können für die Prognose und Behandlung von Patienten mit akuten Koronarsyndromen hilfreich sein<sup>9</sup>.

## Prinzip der Methode

Polystyrol-Partikel, die mit einem spezifischen monoklonalen Antikörper gegen humanes CRP beladen sind, bilden bei Mischung mit CRP enthaltenden Proben Aggregate, an denen eingestrahles Licht gestreut wird. Die Intensität des Streulichts ist abhängig von der Konzentration des jeweiligen Proteins in der Probe. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich mit einem Standard bekannter Konzentration. Der CRP-Analysewert des N Rheuma Standard SL ist unter Bezug auf die internationale Referenzpräparation BCR - CRM 470 kalibriert<sup>9,10</sup>.

## Reagenzien

### Inhalt der Handelspackung

**CardioPhase\* hsCRP Reagenz, Bestell-Nr. OQIY**

Fünf Flaschen mit je 5 ml oder drei Flaschen mit je 2 ml

### Zusammensetzung

**CardioPhase\* hsCRP Reagenz** besteht aus einer Suspension von Polystyrol-Partikeln, die mit einem monoklonalen Antikörper (Maus) gegen CRP beladen sind.

### Konservierungsmittel

**CardioPhase\* hsCRP Reagenz:** Gentamicin 6,25 mg/l, Amphotericin 0,625 mg/l

### Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur *in-vitro*-diagnostischen Anwendung.
2. Jede individuelle Blutspende, die zur Herstellung von **CardioPhase\* hsCRP Reagenz** vorgesehen war, wurde auf HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV1 und Anti-HIV2 untersucht. Für die Herstellung wurden nur Spenden mit negativem Befund verwendet. Unabhängig davon sollten alle aus menschlichem Gewebe oder Körperflüssigkeiten gewonnenen Materialien wegen nie auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger mit angemessener Sorgfalt unter Einhaltung der bei Biogefährdung empfohlenen Sicherheitsmaßnahmen gehandhabt werden<sup>11</sup>.

### Vorbereitung des Reagenzes

Das **CardioPhase\* hsCRP Reagenz** ist gebrauchsfertig. Es ist vor dem ersten Gebrauch behutsam zu durchmischen.

### Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen

Lagerung bei +2 bis +8 °C:

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett angegeben.

Stabilität nach Öffnen:

Vier Wochen, sofern unmittelbar nach Gebrauch wieder dicht verschlossen bei +2 bis +8 °C gelagert; das Reagenz darf nicht eingefroren werden.

Stabilität auf den BN\* Systemen:

Minimal fünf Tage mit jeweils acht Stunden, oder ein vergleichbarer Zeitraum.

**Hinweis:** Die "on-board" Stabilität hängt von dem verwendeten BN\* System sowie den Laborbedingungen ab. Weiterführende Angaben sind in den Bedienungsanleitungen des BN\* II und BN ProSpec® Systems enthalten.

### Zusätzlich benötigte Materialien

BN\* System

N Rheuma-Standard SL, Bestell-Nr. OQKZ

N/T Rheuma-Kontrollen SL1 und SL2, Bestell-Nr. OQDB und OQDC

Apolipoprotein-Kontroll-Serum CHD, Bestell-Nr. OUPH

N Zusatzreagenz/Präzipitation, Bestell-Nr. OUMU

N-Diluens, Bestell-Nr. OUMT

BN\* II Evaporation Stoppers (wahlweise), Bestell-Nr. OVLE

Verbrauchsmaterial und Ausrüstung wie in den Bedienungsanleitungen der BN\* Systeme beschrieben.

## Untersuchungsmaterial

Zur Messung sollen möglichst frische (maximal acht Tage bei +2 bis +8 °C aufbewahrte) oder gefrorenen gelagerte humane Serum- sowie Heparin- und EDTA-Plasmaproben eingesetzt werden. Werden Proben innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme eingefroren, so ist eine Lagerung unterhalb von -20 °C bis zu acht Monaten möglich, wenn wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermieden wird. Serumproben müssen vollständig geronnen sein und dürfen nach Zentrifugation keine Partikel oder Spuren von Fibrin enthalten. Lipämische Proben oder eingefrorene Proben, die nach dem Auftauen trüb sind, müssen vor der Bestimmung durch Zentrifugation (10 min bei ca. 15.000 x g) geklärt werden.

## Testdurchführung

### Hinweise

1. Einzelheiten zur Bedienung der BN\* Systeme sind der entsprechenden Bedienungsanleitung zu entnehmen.
2. Reagenzien und Proben sollen vor der Messung am BN\* 100 System Raumtemperatur (+15 bis +25 °C) erreicht haben. Am BN\* II und BN ProSpec® System können bei +2 bis +8 °C gelagerte Reagenzien und Proben direkt zur Bestimmung eingesetzt werden.
3. Am BN\* 100 System sollte die Messung von Proben bei etwa der gleichen Umgebungstemperatur (maximal 3 °C Abweichung) durchgeführt werden, wie zur Aufnahme der Referenzkurve.

### Assay-Protokolle an den BN\* Systemen

Die Assay-Protokolle (jeweils für Serum und Plasma) sind in der Bedienungsanleitung sowie der Software des jeweiligen Gerätes enthalten. Alle Schritte werden automatisch vom System durchgeführt.

### Erstellung der Referenzkurve

Referenzkurven werden über Mehrpunktkalibrierung erzeugt. Für die Erstellung werden automatisch Verdünnungsreihen des N Rheuma-Standard SL mit N-Diluens hergestellt. Die Standard-Verdünnungen müssen innerhalb von vier Stunden verwendet werden. Die Referenzkurve ist vier Wochen lang gültig. Sie kann über diesen Zeitraum hinaus verwendet werden, solange Kontrollen mit entsprechenden verfahrensabhängigen Sollwerten wie z.B. die N/T Rheuma-Kontrollen SL1 und SL2 oder Apolipoprotein-Kontroll-Serum CHD, innerhalb des jeweiligen Vertrauensbereichs wiedergefunden werden. Bei Verwendung einer anderen Reagenzcharge muss eine neue Referenzkurve aufgenommen werden. Die exakten Messbereiche hängen von der Protein-konzentration jeder N Rheuma-Standard SL Charge ab. Typische Messbereiche sind in den jeweiligen BN\* System Bedienungsanleitungen angegeben.

### Messung der Patientenproben

Proben werden automatisch 1:400 (CRP1) oder 1:20 im sensitiven Assay-Protokoll (CRP2) mit N-Diluens verdünnt. Die Verdünnungen müssen innerhalb von vier Stunden gemessen werden. Bei Messwerten, die außerhalb des Messbereichs liegen, kann die Messung aus einer höheren oder niedrigeren (nur im CRP1 Assay-Protokoll) Probenverdünnung wiederholt werden. Wiederholungsmessungen aus weiteren Probenverdünnungen sind in den Bedienungsanleitungen der BN\* Systeme beschrieben.

### Interne Qualitätskontrolle

Die N/T Rheuma-Kontrollen SL1 und SL2 bzw. das Apolipoprotein-Kontroll-Serum CHD sollten nach jeder Erstellung einer Referenzkurve, nach erstmaligem Einsatz einer Reagenzabfüllung sowie bei jeder Serie von Proben eingesetzt werden. Die Kontrollen werden im Ansatz und bei der Auswertung wie Patientenproben behandelt. Der Sollwert und Vertrauensbereich sind der Tabelle der Sollwerte der entsprechenden Kontrolle zu entnehmen. Wenn das Ergebnis der Kontrollmessungen außerhalb des Vertrauensbereichs liegt, ist die Kontrollbestimmung zu wiederholen. Wird die Abweichung durch die Wiederholungsmessung bestätigt, sollte eine neue Referenzkurve aufgenommen werden. Patientenergebnisse dürfen erst dann wieder freigegeben werden, wenn die Ursache der Abweichung identifiziert und behoben wurde.

### Berechnung der Analyseergebnisse

Die Auswertung erfolgt automatisch in mg/l oder in einer vom Benutzer am BN\* System auszuwählenden abgeleiteten Masseneinheit.

### Einschränkungen der Testdurchführung

Trübungen und Partikel in den Proben können die Bestimmung stören. Deshalb müssen Proben, die Partikel enthalten, vor der Bestimmung zentrifugiert werden. Lipämische oder trübe Proben, die durch Zentrifugation (10 min bei ca. 15.000 x g) nicht zu klären sind, sind von der Bestimmung auszuschließen.

Eine Störung durch Bilirubin bis zu 600 mg/l, freies Hämoglobin bis zu 10 g/l und Triglyceride bis zu 16 g/l kommt nicht festgestellt werden.

Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, die in Immunoassays zu falsch-hohen oder falsch-niedrigen Ergebnissen führen können. Dieser Assay ist so ausgelegt, dass der Einfluss heterophiler Antikörper minimiert ist. Dennoch kann eine komplette Unterdrückung ihrer Effekte nicht garantiert werden. Resultate dieses Tests sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Aufgrund von Matrixeffekten können für Kontroll- und Ringversuchsproben unterschiedliche Ergebnisse in Abhängigkeit von der verwendeten Bestimmungsmethode resultieren. Es kann daher notwendig sein, die Bewertung dieser Ergebnisse an methoden-spezifischen Zielwerten vorzunehmen.

### Empfehlungen des AHA/CDC Expertengremiums<sup>2</sup>:

Die hsCRP-Bestimmung sollte nicht als Ersatz für traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren dienen. Die Anwendung von Behandlungsempfehlungen für akute Koronarsyndrome sollte nicht von der Höhe der hsCRP Konzentration abhängig gemacht werden.

Bei Patienten mit chronischer Koronarerkrankung oder akutem Koronarsyndrom kann die hsCRP-Bestimmung als ein unabhängiger prognostischer Hinweis hilfreich sein.

Bei Verwendung des Assays zur Risikoabschätzung sollten Patienten, die auch nach wiederholter Testung eine persistierende, unklare Erhöhung von hsCRP (>10 mg/l) aufweisen, auf nicht-kardiovaskuläre Ursachen hin untersucht werden.

Ein generelles Screening aller Erwachsener auf hsCRP als öffentliche Gesundheitsmaßnahme wird durch das Expertengremium nicht unterstützt.

Patienten mit Hinweisen auf eine akute Infektion, systemische entzündliche Prozesse oder ein Trauma sollten bis zum Abklingen des Zustandes nicht zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos getestet werden.

Die Anwendung sekundärer Präventionsmaßnahmen sollte nicht alleine von der hsCRP-Bestimmung, sondern von einer Reihe von Risikofaktoren (von einer umfassenden Risikoabschätzung) abhängig gemacht werden.

Wiederholte CRP-Bestimmungen sollten nicht als Therapiekontrolle verwendet werden.

Auf Grund der intra-individuellen Variabilität des CRP-Wertes sollten zur Risikoabschätzung zwei separate CRP-Messungen erfolgen, idealerweise im Abstand von zwei Wochen. Das hsCRP-Ergebnis ist ein unabhängiger Risikomarker.

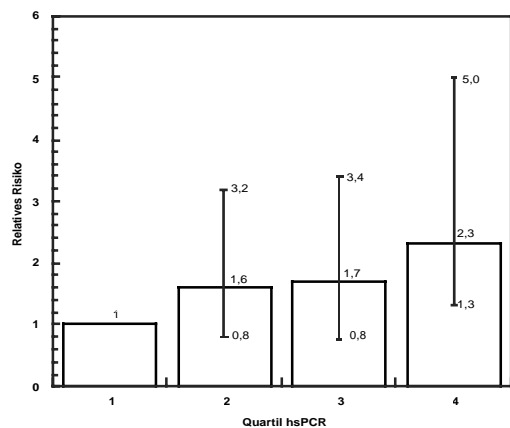
Die Höhe des hsCRP-Werts kann die Motivation von Patienten fördern, ihren Lebensstil zu verbessern.

### Interpretation der Ergebnisse

Aktuelle medizinische Ereignisse, die zu Gewebeverletzung, Infektion oder Entzündung und dadurch möglicherweise zu erhöhten CRP-Werten führen können, sollten bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

### Risikoabschätzung bei kardiovaskulären und peripheren vaskulären Erkrankungen:

Mehrere Studien haben den Nutzen der hsCRP-Bestimmung für die Prognose kardiovaskulärer Erkrankungen untersucht. In einer Untergruppe von 280 Teilnehmern der Physicians' Health Study, wurden für eine Vielzahl von Biomarkern, einschließlich hsCRP, Ausgangswerte bestimmt. Zur Feststellung der Entwicklung peripherer arterieller Erkrankungen (PAD = peripheral arterial disease) wurde die Gruppe neun Jahre lang beobachtet. Die folgende Grafik zeigt das relative Risiko (95% Vertrauensbereich) für die Entwicklung einer PAD als eine Funktion des Quartils der hsCRP-Konzentration<sup>12</sup>.



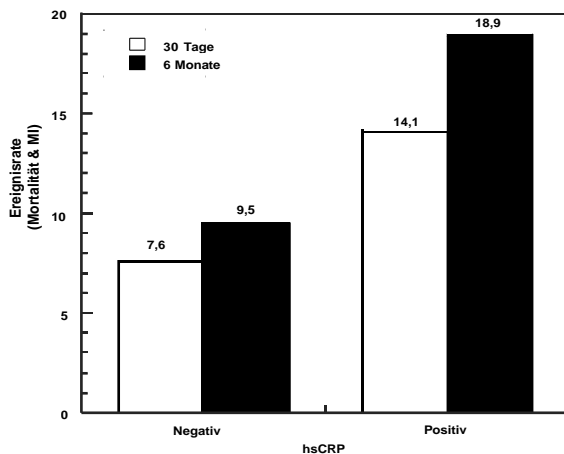
Das AHA/CDC Expertengremium formulierte die folgenden Richtlinien zur Risikoabschätzung<sup>2</sup>:

Risiko	hsCRP (mg/l)
Niedrig	< 1,0
Durchschnittlich	1,0 - 3,0
Hoch	> 3,0

### Risiko-Stratifizierung:

Für Patienten mit akuten Koronarsyndromen kann die Messung von hsCRP zur Prognose beitragen. Es wurde gezeigt, dass ein CRP-Wert > 10 mg/l im Frühstadium (6 bis 24 Stunden nach dem Auftreten der Symptome) auf ein erhöhtes kurzzeitiges Risiko (30 Tage bis zu 1 Jahr) für wiederkehrende kardiale Ereignisse hinweist<sup>15</sup>.

Eine Substudie mit 447 Patienten aus der CAPTURE-Studie untersuchte die klinischen Auswirkungen erhöhter CRP-Werte für die Risiko-Stratifizierung in Patienten mit instabiler Angina pectoris. Wie die folgende Grafik zeigt, erlitten Patienten mit CRP >10 mg/l häufiger ein kardiales Ereignis (Mortalität oder Myokard-Infarkt (MI)), als Patienten mit CRP < 10 mg/l<sup>12</sup>.



### Referenzbereich

Typische CRP-Werte für gesunde Individuen sind in der Literatur mit  $\leq 3$  mg/l angegeben<sup>14, 15</sup>. Der Referenzbereich für CRP im Serum von 2147 gesunden Probanden, bestimmt mit **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP, betrug<sup>16</sup>:

90%	1,69 mg/l
95%	2,87 mg/l

In dieser Studie wurde die "Stanislas Kohorte", bestehend aus 1151 Männern und 996 Frauen im Alter von 5 bis 71 Jahren untersucht<sup>17</sup>. Alle Teilnehmer waren europäischer Abstammung und es lagen keine Diagnosen erster und/oder chronischer Krankheiten (wie Krebs oder Gefäßerkrankungen) vor.

Probanden unter Einnahme von entzündungshemmenden Medikamenten oder Antibiotika wurden von der Studie ausgeschlossen. Da CRP ein unspezifischer Indikator für verschiedenste Erkrankungsvorgänge ist und Referenzbereiche vielen Einflussgrößen unterliegen, die für jedes untersuchte Kollektiv verschieden sein können, sollte jedes Labor eigene Referenzbereiche ermitteln.

### Leistungsmerkmale der Bestimmung

#### Empfindlichkeit

Die analytische Empfindlichkeit der Bestimmung wird durch die untere Grenze der Referenzkurve festgelegt und hängt damit von der Konzentration des Proteins im N Rheuma-Standard SL ab. Eine typische Nachweisgrenze für CRP ist 0,175 mg/l bei Messung aus einer Probenverdünnung von 1:20. Die 10-fache Bestimmung einer Probe mit einem CRP-Gehalt von 0,41 mg/l ergab einen Variationskoeffizienten von 7,6 %.

### Spezifität

Es sind keine Kreuzreaktionen des verwendeten Antikörpers bekannt.

### Präzision

Bestimmungen mit dem **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP Reagenz erbrachten folgende Variationskoeffizienten (VK):

CRP-Gehalt (mg/l)	Präzision	
	Intra-assay (n=20) VK (%)	Inter-assay (n=10) VK (%)
0,5	3,1	2,5
1,1	3,8	3,8
2,1	3,4	2,1
15	4,0	2,6
26	2,3	3,9
62	4,4	5,7

### Methodenvergleich

71 Seren mit CRP-Konzentrationen bis etwa 500 mg/l wurden mit **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP (y) und parallel dazu mit dem N Latex CRP Kit (x) bestimmt. Der Vergleich der Ergebnisse durch Regressionsanalyse ergab folgende Ausgleichsgerade:  $y = 0,95x + 1,43$  mg/l.

### Anmerkung

Die angegebenen Werte für die Leistungsmerkmale der Bestimmung stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikation für das **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP Reagenz anzusehen.

### Literatur

Siehe englische Packungsbeilage.

\* BN und **CardioPhase** sind Marken der Dade Behring Marburg GmbH in den USA.

BN Pro Spec ist eine registrierte Marke der Dade Behring Marburg GmbH in den USA, Deutschland und anderen Ländern.

Dade Behring Marburg GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76  
D-35041 Marburg  
www.dadebehring.com



Ausgabe März 2004

# CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP

### Domaine d'utilisation

Réactif de diagnostic *in vitro* pour la détermination quantitative de la Protéine C-réactive (CRP) dans le sérum ou le plasma hépariné ou prélevé sur EDTA humain, par immunonéphéométrie sensibilisée avec des particules, à l'aide des systèmes BN<sup>®</sup>. Pendant la réaction de la phase aiguë, on observe une augmentation de la concentration d'un certain nombre de protéines plasmatiques, dont la CRP. Le dosage de la CRP permet le dépistage et l'évaluation de différentes infections, lésions tissulaires et processus inflammatoires, ainsi que des maladies qui y sont associées. Les résultats de CRP obtenus dans un domaine hautement sensible (hsCRP) peuvent être utilisés comme marqueur de risque indépendant pour identifier les sujets ayant un risque de maladie cardiovasculaire. Le dosage de la hsCRP peut également, en liaison avec les résultats de laboratoire chimico-cliniques traditionnels, être un marqueur pronostique indépendant pour les événements récidivants chez les patients ayant une maladie coronarienne chronique ou un syndrome coronarien aigu.

### Intérêt diagnostique

La CRP fait partie des protéines dites de la phase aiguë, dont la concentration sérique ou plasmatique augmente dans le cadre d'une réponse générale et non-spécifique à des processus inflammatoires infectieux ou non-infectieux. La CRP est synthétisée dans le foie, et est présente sous forme de protéine de traces dans le sérum et le plasma normal. Différents tableaux cliniques, dus à une lésion tissulaire, une infection ou une inflammation, peuvent provoquer dans les quatre à huit heures qui suivent un événement aigu une augmentation des valeurs de CRP, celles-ci pouvant alors atteindre 20 à 500 mg/l<sup>1</sup>. Dans la mesure où une augmentation de la valeur de CRP est toujours accompagnée de modifications pathologiques, le dosage de la CRP possède une forte valeur prédictive pour le diagnostic, le traitement et le contrôle d'évolution des processus inflammatoires et des maladies qui y sont associées<sup>2,3,4</sup>. L'augmentation de la CRP est non-spécifique, et ne doit donc pas être interprétée en dehors de l'historique clinique complet de la maladie. Des études ont montré que le dosage de la CRP avec des tests hautement sensibles était un indicateur fort et indépendant vis-à-vis d'un risque de développer de futures maladies cardiovasculaires ou vasculaires périphériques<sup>5</sup>. Le dosage de la hsCRP permet également de renforcer le pronostic donné par d'autres marqueurs dans le cadre de l'évaluation du risque de maladie cardiovasculaire ou vasculaire périphérique<sup>6,7,8</sup>. Les valeurs augmentées de CRP obtenues dans un test hsCRP peuvent être utilisées pour le pronostic et le traitement des patients souffrant d'un syndrome coronarien aigu<sup>9</sup>.

### Principe de la méthode

Les particules de polystyrène recouvertes d'un anticorps monoclonal anti-CRP humaine spécifique forment, lorsqu'elles sont mélangées à un échantillon contenant de la CRP, des agrégats sur lesquels une lumière est diffusée. L'intensité de la lumière diffusée est proportionnelle à la concentration de CRP de l'échantillon. L'exploitation se fait par comparaison avec un standard de concentration connue. La valeur analytique en CRP du N Standard Rheuma SL est étalonnée par rapport à la préparation de référence internationale BCR - CRM 470<sup>10</sup>.

### Réactif

#### Conditionnements

Réactif **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP, code OQIY

5 flacons de 5 ml, ou 3 flacons de 2 ml

#### Composition

Le Réactif **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP est composé d'une suspension de particules de polystyrène recouvertes d'un anticorps monoclonal (de souris) anti-CRP.

#### Conservateurs

Réactif **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP : 6,25 mg/l de gentamicine, 0,625 mg/l d'amphotéricine

#### Mises en garde et précautions d'emploi

- Réserve à un usage de diagnostic *in vitro*.
- Tout don de sang individuel prévu pour la préparation du Réactif **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP a été testé vis-à-vis de l'anticorps AgHBs, de l'anticorps anti-VHC, de l'anticorps anti-VIH1 et de l'anticorps anti-VIH2. Seuls les dons trouvés négatifs ont été utilisés. Néanmoins, toutes les préparations obtenues à partir de tissu ou de liquides humains doivent être manipulés avec les précautions nécessaires en cas de risque biologique, dans la mesure où l'on ne peut exclure totalement un risque d'infection<sup>11</sup>.

#### Préparation du réactif

Le Réactif **CardioPhase**<sup>®</sup> hsCRP est prêt à l'emploi. L'homogénéiser avec précaution avant le premier emploi.

#### Stabilité et conditions de conservation

Conservation à +2/+8 °C.

La date de péremption est indiquée sur l'étiquette.

#### Stabilité après ouverture :

4 semaines, à condition de bien refermer le flacon et de le replacer à +2/+8 °C immédiatement après emploi ; ne pas congeler le réactif.

#### Stabilité sur les systèmes BN<sup>®</sup> :

Au moins 5 journées de 8 heures, ou temps total équivalent.

**Remarque :** la stabilité « on board » dépend du système BN<sup>®</sup> utilisé ainsi que des conditions d'analyse du laboratoire. Pour plus de précisions, se reporter aux manuels d'utilisation des systèmes BN<sup>®</sup> II et BN ProSpec<sup>®</sup>.

#### Matériel et autres réactifs nécessaires

Système BN<sup>®</sup>

N Standard Rheuma SL, code OQKZ

N/T Contrôles Rheuma SL/1 et SL/2, codes OQDB et OQDC

Sérum de contrôle Apolipoprotéines CHD, code OUPH

N Réactif complémentaire/Précipitation, code OUMU

N Diluant, code OUMT

BN<sup>®</sup> II Bouchons anti-évaporation (utilisation optionnelle), code OVLE

Concernant le consommable et l'équipement, se reporter aux manuels d'utilisation des systèmes BN<sup>®</sup>.

#### Échantillons à tester

Utiliser des échantillons sériques ou plasmatiques héparinés ou prélevés sur EDTA humains, de préférence frais (conservés 8 jours maximum à +2/+8 °C), sinon congelés. Les échantillons congelés à au moins -20 °C dans les 24 heures qui ont suivi leur prélèvement, peuvent être utilisés pendant 8 mois à condition qu'ils n'aient été congelés qu'une seule fois. Les échantillons sériques doivent être totalement coagulés et ne plus contenir aucune particule ni traces de fibrine après centrifugation. Les échantillons lipémiques ou devenus troubles après décongélation doivent être clarifiés par centrifugation (10 min à env. 15 000 x g) avant leur emploi dans le test.

## Réalisation du test

### Remarques :

- Pour plus de détails concernant l'utilisation des systèmes BN\*, se reporter au manuel d'utilisation du système utilisé.
- Porter réactifs et échantillons à la température de la pièce (+15/+25 °C) avant leur utilisation sur le BN\* 100. Sur le BN\* II et le BN ProSpec®, les réactifs et les échantillons peuvent être directement utilisés à +2/+8 °C.
- Sur le BN\* 100, la mesure des échantillons doit être effectuée à peu près dans les mêmes conditions de température (maximum 3 °C d'écart) que celle de la courbe d'étalonnage.

### Protocoles du test sur les systèmes BN\*

Les protocoles du test (différents pour le sérum et le plasma) sont indiqués dans le manuel d'utilisation ainsi que le logiciel de chaque système. Toutes les étapes sont effectuées automatiquement par le système.

### Établissement de la courbe d'étalonnage

L'établissement de la courbe d'étalonnage se fait selon une calibration en plusieurs points. Une série de dilutions du N Standard Rheuma SL avec le N-Diluant est automatiquement établie. Les dilutions du standard doivent être utilisées dans les 4 heures. Une courbe d'étalonnage reste valable pendant 4 semaines. Pendant cette période, elle peut être utilisée aussi longtemps que les contrôles qui ont des valeurs théoriques correspondant à la technique, par ex. les N/T Contrôles Rheuma SL/1 et SL/2 ou le Sérum de contrôle Apolipoprotéines CHD, sont trouvés à l'intérieur de leur domaine de confiance respectif. Une nouvelle courbe d'étalonnage doit être établie à chaque changement de lot de réactif. Les domaines de mesure exacts dépendent de la concentration en CRP du lot de N Standard Rheuma SL utilisé. Des domaines de mesure types sont indiqués dans les manuels d'utilisation des systèmes BN\*.

### Mesure des échantillons de patients

Les échantillons sont dilués automatiquement avec le N Diluant au 1/400 (CRP1) ou au 1/20 dans le protocole de test sensible (CRP2). Les dilutions doivent être testées dans les 4 heures qui suivent. Si des valeurs mesurées sortent du domaine de mesure, retester les échantillons à une dilution plus élevée ou plus basse (uniquement possible dans le protocole CRP1). Les procédures de retest des échantillons à d'autres dilutions sont décrites dans les manuels d'utilisation des systèmes BN\*.

### Contrôle de qualité interne

Introduire les N/T Contrôles Rheuma SL/1 et SL/2 ou le Sérum de contrôle Apolipoprotéines CHD après chaque nouvelle courbe d'étalonnage, à chaque nouveau flacon de réactif, ainsi qu'à chaque nouvelle série d'échantillons. Traiter les contrôles comme des échantillons de patients, aussi bien lors du dosage que pour l'exploitation des résultats.

Les valeurs théoriques ainsi que les domaines de confiance sont indiqués dans le tableau des valeurs théoriques joint à chaque contrôle. Si un résultat de contrôle sort du domaine de confiance, le contrôle doit être retesté. Si la déviation est confirmée, une nouvelle courbe d'étalonnage doit être établie. Les résultats des patients ne peuvent alors être rendus qu'après identification et élimination de la cause de la déviation.

### Calcul des résultats d'analyse

L'exploitation est effectuée automatiquement en mg/l ou dans l'unité choisie par l'utilisateur du système BN\*.

### Limites de réalisation du test

Les échantillons troubles ou contenant des particules peuvent perturber le test. Aussi les échantillons contenant des particules doivent-ils être centrifugés avant le test. Les échantillons lipémiques ou troubles qui ne peuvent pas être clarifiés par centrifugation (10 min à env. 15 000 x g) doivent être éliminés du test. Aucune influence due à la présence de bilirubine jusqu'à 600 mg/l, d'hémoglobine libre jusqu'à 10 g/l, ou de triglycérides jusqu'à 16 g/l n'a pu être observée.

Les échantillons de patients peuvent contenir des anticorps hétérophiles qui peuvent être à l'origine de résultats augmentés ou diminués à tort dans les tests immunologiques. Ce test a été mis au point de façon à minimiser l'influence d'anticorps hétérophiles. Cependant, leur élimination complète ne peut être garantie. Aussi un résultat doit-il toujours être interprété en fonction de l'anamnèse du patient, de son tableau clinique et des résultats des autres analyses.

Les échantillons utilisés dans le cadre de contrôles nationaux peuvent, du fait d'effets matriciels, donner des résultats différents selon la technique de dosage utilisée. Il peut dans ces cas-là être nécessaire d'évaluer les résultats selon des valeurs-cibles spécifiques à chaque méthode.

### Recommandations du groupe d'experts AHA/CDC<sup>5</sup> :

Le dosage de la hsCRP ne doit pas remplacer les facteurs de risques cardiovasculaires traditionnels. La mise en œuvre de directives thérapeutiques ne doit pas dépendre du niveau de concentration de la hsCRP.

Chez les patients atteints d'une maladie coronarienne chronique ou d'un syndrome coronarien aigu, le dosage de la hsCRP peut être utile en tant qu'indicateur pronostique indépendant.

Dans le cadre d'une utilisation du test pour une évaluation du risque cardiovasculaire, il faut rechercher des causes non cardiovasculaires chez les patients qui, même après un deuxième test, présentent une augmentation persistante et non clarifiée de la hsCRP (> 10 mg/l).

Le groupe d'experts ne soutient pas l'idée d'un dépistage général de la hsCRP chez tous les adultes comme mesure de santé publique.

Les patients qui présentent des signes d'infection aiguë, de processus inflammatoire systémique ou de traumatisme ne doivent pas être testés pour évaluer leur risque cardiovasculaire tant que leur état n'est pas rétabli.

Des dosages répétés de CRP ne doivent pas être utilisés comme contrôle du traitement.

Du fait de la variabilité individuelle de la CRP, il est recommandé, pour l'évaluation du risque cardiovasculaire, d'effectuer deux dosages séparés de la CRP, si possible à deux semaines d'intervalle. Le résultat de hsCRP est un marqueur de risque indépendant.

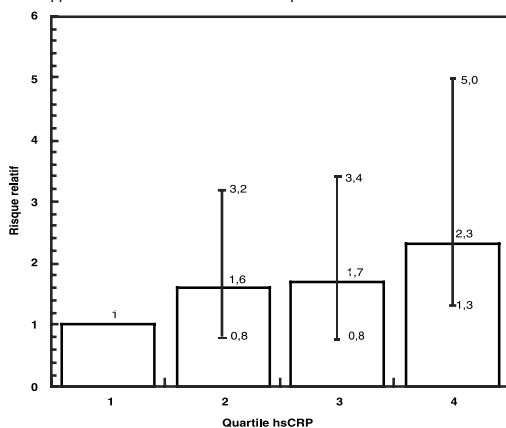
La hauteur de la valeur de CRP peut être un élément de motivation du patient à améliorer son mode de vie.

### Interprétation des résultats

Les événements médicaux qui peuvent entraîner une lésion tissulaire, une infection ou une inflammation, et par là provoquer une augmentation de la valeur de CRP, doivent être pris en compte lors de l'interprétation des résultats.

### Évaluation du risque en cas de maladie cardiovasculaire ou vasculaire périphérique :

Plusieurs études ont montré l'intérêt du dosage de la hsCRP pour le pronostic des maladies cardiovasculaires. Un sous-groupe de 280 participants à la « Physicians' Health Study » a permis de déterminer des valeurs de départ pour un grand nombre de biomarqueurs, dont la hsCRP. Le groupe a été observé pendant neuf ans pour déterminer le développement des maladies artérielles périphériques (PAD = peripheral arterial disease). Le graphique ci-dessous montre le risque relatif (domaine de confiance de 95%) de développement d'une PAD en fonction du quartile de la concentration de hsCRP<sup>12</sup>.



Recommandations pour l'évaluation du risque formulées par le groupe d'experts AHA/CDC<sup>5</sup> :

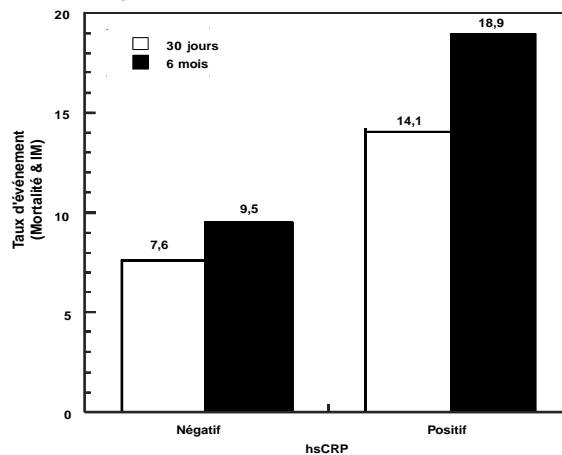
Risque	hsCRP (mg/l)
Faible	< 1,0
Moyen	1,0 - 3,0
Élevé	> 3,0

### Stratification du risque :

La mesure de la hsCRP peut être une aide au pronostic chez les patients souffrant d'un syndrome coronarien aigu. Il a été montré qu'une valeur de CRP > 10 mg/l au stade précoce (6 à 24 heures après l'apparition des symptômes) indiquait un risque élevé à court terme (30 jours à 1 an) de voir réapparaître un événement cardiaque<sup>6</sup>.



Une sous-étude de l'étude CAPTURE, comprenant 447 patients, a porté sur les répercussions cliniques des valeurs augmentées de CRP pour la stratification du risque chez les patients souffrant d'angine de poitrine instable. Comme le montre le graphique ci-dessous, les patients ayant une CRP > 10 mg/l ont connu plus fréquemment un événement cardiaque (mortalité ou infarctus du myocarde (IM)) que les patients ayant une CRP < 10 mg/l<sup>12</sup>.



### Domaine de référence

Selon la littérature, les valeurs types de CRP chez les sujets sains sont  $\leq 3$  mg/l<sup>14,15</sup>.

Sur un collectif de 2147 sujets sains, le domaine de référence de la CRP sérique, mesurée avec **CardioPhase\* hsCRP**, a été trouvé aux valeurs suivantes<sup>16</sup> :

90%	1,69 mg/l
95%	2,87 mg/l

Ce collectif était composé de la « Cohorte Stanislas », soit 1151 hommes et 996 femmes âgés de 5 à 71 ans<sup>17</sup>. Tous les participants étaient d'origine européenne, sans aucun diagnostic de maladie grave et/ou chronique (tel que cancer ou maladie vasculaire).

Les individus sous traitement anti-inflammatoire ou sous antibiotique avaient été exclus de l'étude. Dans la mesure où la CRP est un témoin non-spécifique de processus pathologiques très divers, et que le domaine de référence est soumis à de nombreux facteurs d'influence qui peuvent varier d'un collectif à un autre, il est recommandé à chaque laboratoire de déterminer son propre domaine de référence.

### Caractéristiques du test

#### Sensibilité

La sensibilité analytique du dosage est déterminée par la limite inférieure de la courbe d'étalonnage et dépend donc de la concentration en CRP du N Standard Rheuma SL. Le seuil de sensibilité type de la CRP est de 0,175 mg/l pour une dilution au 1/20 des échantillons. Un échantillon avec un taux de CRP de 0,41 mg/l a été testé 10 fois et a donné un coefficient de variation de 7,6%.

#### Spécificité

Aucune réaction croisée avec l'anticorps utilisé n'est connue.

#### Précision

Des dosages avec le Réactif **CardioPhase\* hsCRP** ont donné les coefficients de variation (CV) suivants :

Précision			
Taux de CRP (mg/l)	Répétabilité (n=20) CV (%)	Taux de CRP (mg/l)	Reproductibilité (n=10) CV (%)
0,5	3,1	0,5	2,5
1,1	3,8	1,3	3,8
2,1	3,4	2,1	2,1
15	4,0	14	2,6
26	2,3	24	3,9
62	4,4	56	5,7

### Comparaison avec une autre méthode

71 sérums avec des concentrations de CRP allant jusqu'à env. 500 mg/l ont été testés d'une part avec **CardioPhase\* hsCRP** (y) et d'autre part avec le coffret N Latex CRP (x). La comparaison des résultats par analyse de régression a donné la droite de régression suivante :  $y = 0,95x + 1,43$  (mg/l).

### Remarque

Les valeurs indiquées comme caractéristiques du test représentent des résultats types, et ne doivent pas être considérées comme des valeurs spécifiques du Réactif **CardioPhase\* hsCRP**.

### Littérature

Cf. texte anglais.

\* BN et **CardioPhase** sont des marques de Dade Behring Marburg GmbH aux USA.

BN ProSpec est une marque déposée de Dade Behring Marburg GmbH aux USA, en Allemagne et dans d'autres pays.

Dade Behring Marburg GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76  
D-35041 Marburg  
www.dadebehring.com



Edition Mars 2004

# CardioPhase\* hsCRP

### Settore d'impiego

**CardioPhase\* hsCRP** è un reagente diagnostico *in vitro* per la determinazione quantitativa della Proteina C reattiva (CRP) su siero umano, nonché su plasma eparinato e con EDTA, mediante immunonefelometria amplificata utilizzando i Sistemi BN\*. Nella fase acuta della risposta, si osservano aumentati livelli di alcune proteine plasmatiche, compresa la proteina C reattiva. Il dosaggio della CRP è utile per la rilevazione e la valutazione di infezione, di danno tissutale, di disturbi infiammatori e di patologie associate. La determinazione della CRP ad alta sensibilità (hsCRP) può essere utilizzata come marcatore indipendente di rischio per identificare soggetti a rischio di future patologie cardiovascolari. La determinazione di hsCRP, quando utilizzata congiuntamente con la valutazione tradizionale di laboratorio nei confronti delle sindromi coronariche acute, può essere utile come marcatore prognostico indipendente per eventi ricorrenti, in pazienti con patologia coronarica stabile o sindromi coronariche acute.

### Significato diagnostico

La CRP è una delle proteine della "fase acuta", i cui livelli sierici o plasmatici salgono durante la risposta generale non specifica a processi infiammatori infettivi e non infettivi. La CRP viene sintetizzata nel fegato ed è di norma presente in tracce nel siero o nel plasma.

In vari stati patologici risultanti in danno tissutale, infezione o infiammazione acuta, i valori di CRP possono aumentare da 20 fino a 500 mg/L. Poiché valori elevati di CRP sono sempre associati con variazioni patologiche il dosaggio della CRP offre utili informazioni per la diagnosi, al terapia ed il monitoraggio dei processi infiammatori e delle patologie associate<sup>23,4</sup>. Incrementi dei valori di CRP sono aspecifici e non dovrebbero essere interpretati senza un'anamnesi completa.

Gli studi hanno evidenziato che la determinazione della CRP con il metodo ad alta sensibilità ha forte valore predittivo indipendente per il rischio di future patologie cardiovascolari e vascolari periferiche<sup>5</sup>. I dosaggi di CRP ad alta sensibilità hanno anche mostrato di incrementare il valore predittivo di altri marcatori utilizzati per valutare il rischio cardiovascolare e le patologie vascolari periferiche<sup>6,7,8</sup>. Valori elevati di CRP ottenuti con il dosaggio CRP ad alta sensibilità possono avere valore prognostico in soggetti affetti da sindromi coronariche acute, e possono essere utili nella gestione di tali individui<sup>9</sup>.



## Principio del Metodo

Particelle di polistirene ricoperte con anticorpi monoclonali specifici per la CRP umana aggregano a contatto con campioni contenenti CRP. Tali aggregati generano scattering del raggio luminoso fatto passare attraverso il campione. L'intensità dello scattering della luce è proporzionale alla concentrazione della proteina nel campione. Il risultato viene valutato nei confronti di uno standard a concentrazione nota. Il valore di riferimento di CRP nello N Rheumatology Standard SL è standardizzato rispetto alla preparazione internazionale di riferimento BCR - CRM 470<sup>10,16</sup>.

## Reagenti

### Materiali forniti

Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP**, Codice **OQIY**

Cinque flaconi da 5 mL ciascuno oppure tre flaconi da 2 mL ciascuno.

### Composizione

Il Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** è composto da una sospensione di particelle di polistirene ricoperte con anticorpi monoclonali murini anti-CRP.

### Conservanti:

Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP**: Gentamicina 6,25 mg/L, Amfotericina 0,625 mg/L.

### Avvertenze e Precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Ogni unità di sangue utilizzata per la produzione del Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** è stata analizzata per HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 e anti-HIV2. Solo donazioni con risultati negativi sono state utilizzate per la produzione. Tuttavia, poiché l'assenza di agenti infettivi non può essere provata, tutti i materiali derivati da tessuti umani o da fluidi corporei devono essere manipolati con la dovuta attenzione, rispettando le precauzioni d'uso raccomandate per i materiali a rischio biologico<sup>11</sup>.

### Preparazione del Reagente

Il Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** viene fornito pronto all'uso agitare delicatamente prima del primo utilizzo.

### Conservazione e Stabilità

Stabilità da +2 a +8 °C:

Vedere la data di scadenza sull'etichetta.

Stabilità dopo apertura:

Quattro settimane se conservato da +2 a +8 °C ben chiuso immediatamente dopo l'uso; non congelare.

Stabilità On-board:

Un minimo di cinque giorni, per otto ore al giorno, o periodi di tempo equivalenti.

**Nota:** La stabilità on-board può variare, a seconda del Sistema BN\* utilizzato e delle condizioni del laboratorio. Per ulteriori dettagli, fare riferimento ai Manuali di Istruzioni dei Sistemi BN\* II e BN ProSpec<sup>®</sup>.

### Materiali Richiesti ma non Forniti

Sistema BN\*

N Rheumatology Standard SL, Codice OQKZ

N/T Rheumatology Controls SL/1 e SL/2, Codice OQDB e OQDC

Apolipoprotein Control Serum CHD, Codice OUPH

N Supplementary Reagent/Precipitation, Codice OUMU

N Diluent, Codice OUMT

BN\* II Evaporation Stoppers (optional), Codice OVLE

Altri materiali e consumabili come descritto nel Manuale di Istruzioni del Vostro Sistema BN\*.

### Campioni in esame

Sono adeguati campioni di siero umano ed anche plasma con eparina ed EDTA, sia freschi quando possibile (conservati per non più di otto giorni da +2 a +8 °C) sia congelati. I campioni possono essere conservati a temperatura inferiore a -20 °C fino ad otto mesi, se vengono congelati entro 24 ore dal prelievo e se si evitano ripetuti congelamenti e scongelamenti. I campioni di siero devono essere completamente coagulati e, dopo centrifugazione, non devono contenere particelle o tracce di fibrina. Campioni lipemici, oppure campioni congelati che divengono torbidi dopo scongelamento, devono essere chiarificati mediante centrifugazione (10 minuti a circa 15.000 x g) prima dell'analisi.

### Esecuzione dei test

#### Nota:

- Consultare il Manuale di Istruzioni del Vostro Sistema BN\* per dettagli riguardanti l'utilizzo dello strumento.
- Lasciarli equilibrare reagenti e campioni a temperatura ambiente (da +15 a +25 °C) prima di utilizzarli sui Sistemi BN\* 100. Con i Sistemi BN\* II o BN ProSpec<sup>®</sup> reagenti e campioni conservati da +2 a +8 °C possono essere utilizzati immediatamente.
- Sul Sistema BN\* 100, i campioni dovrebbero essere analizzati circa alla medesima temperatura (deviazione massima di 3 °C) delle misurazioni eseguite per determinare la curva di calibrazione.

### Protocolli Analitici sui Sistemi BN\*

I protocolli analitici, per siero e per plasma, vengono forniti nel Manuale di Istruzioni dei Sistemi BN\* e con il software dello strumento. Tutte le fasi vengono eseguite automaticamente dal sistema.

### Esecuzione della Curva di Calibrazione

Le curve di calibrazione vengono generate mediante calibrazione a più punti. Diluizioni seriali di N Rheumatology Standard SL vengono preparate automaticamente dallo strumento utilizzando N Diluent. Le diluizioni dello standard devono essere utilizzate entro quattro ore. La curva di calibrazione è valida per quattro settimane e può essere utilizzata per periodi più lunghi finché i controlli ed i relativi valori metodo-dipendenti, es., N/T Rheumatology Controls SL/1 e SL/2 or Apolipoprotein Control Serum CHD, risultano riproducibili entro i rispettivi intervalli di accettabilità. Se viene utilizzato un nuovo lotto di reagenti, occorre allestire una nuova curva di calibrazione. Lo specifico intervallo di misura dipende dalla concentrazione della proteina in ogni lotto di N Rheumatology Standard SL. Intervalli tipici sono elencati nel Manuale di Istruzioni del Vostro Sistema BN\*.

### Analisi dei Campioni

I campioni vengono automaticamente diluiti 1:400 (CRP1) oppure 1:20 nel protocollo analitico **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** (CRP2) con N Diluent. I campioni diluiti devono essere utilizzati entro quattro ore. Se i risultati ottenuti sono al di fuori dell'intervallo di misurazione, il dosaggio può essere ripetuto utilizzando una diluizione del campione più elevata o più bassa (solo nel protocollo analitico CRP1). Fare riferimento al Manuale di Istruzioni del Sistema BN\* per informazioni sulla ripetizione delle misurazioni con diverse diluizioni.

### Controllo di Qualità Interno

Assay N/T Rheumatology Controls SL/1 e SL/2 oppure Apolipoprotein Control Serum CHD dopo esecuzione di una curva di calibrazione, al primo utilizzo di un flacone di reagente e in ogni ciclo analitico su campioni. I controlli devono essere analizzati e valutati come i campioni dei pazienti. Il valore atteso e gli intervalli di accettabilità sono riportati nella Tabella dei Valori Assegnati del rispettivo controllo. Se un valore di controllo è al di fuori dell'intervallo di accettabilità, il test deve essere ripetuto. Se la ripetizione conferma la deviazione, occorre determinare una nuova curva di calibrazione. Non refertare risultati di pazienti finché la causa della deviazione non sia stata identificata e corretta.

### Risultati

I risultati vengono valutati automaticamente dall'analizzatore ed espressi in mg/L oppure con un'altra unità di misura selezionata dall'Utilizzatore del Sistema BN\*.

### Limitazioni della esecuzione dei test

Torbidità e particelle nei campioni possono interferire con le determinazioni. Pertanto, campioni contenenti particelle devono essere centrifugati prima dell'analisi. Campioni lipemici o torbidi, che non possono essere chiarificati mediante centrifugazione (10 minuti a circa 15.000 x g), non devono essere usati.

Non è stata osservata interferenza da bilirubina fino a 600 mg/L, emoglobina libera fino a 10 g/L e trigliceridi fino a 16 g/L.

I campioni dei pazienti potrebbero contenere anticorpi eterofili che potrebbero reagire nei dosaggi immunologici dando risultati falsamente elevati o bassi. Questo test è stato concepito per minimizzare l'interferenza da anticorpi eterofili. Tuttavia, la completa eliminazione dell'interferenza per tutti i campioni dei pazienti non può essere garantita. I risultati del test devono sempre essere interpretati insieme con l'anamnesi del paziente, il quadro clinico ed altri reperti.

A causa dell'effetto matrice, campioni per programmi di controllo interlaboratori e altri controlli potrebbero dare risultati differenti da quelli ottenuti con altri metodi. Pertanto potrebbe essere necessario valutare tali risultati in rapporto ai valori attesi specifici per i metodi.

### Raccomandazioni dell'AHA/CDC Expert Panel<sup>2</sup>:

I livelli di hsCRP non dovrebbero sostituire la valutazione dei fattori tradizionali di rischio cardiovascolare. L'applicazione delle linee guida per le sindromi coronariche acute non deve dipendere dai livelli di hsCRP. In pazienti con patologia coronarica stabile oppure con sindromi coronariche acute, il dosaggio hsCRP può essere utile come marcatore prognostico indipendente.

Quando si utilizza il test per la valutazione del rischio, pazienti con marcati innalzamenti persistenti ed inspiegabili di hsCRP (>10 mg/L) dopo ripetute esecuzioni del test dovrebbero essere valutati per eventuali eziologie non cardiovascolari.

Il gruppo di esperti è contrario allo screening dell'intera popolazione adulta per la hsCRP come strumento di salute pubblica.

Pazienti con evidenza di infezioni attive, processi infiammatori sistemici o traumi non dovrebbero essere valutati nell'ottica del rischio di patologie cardiovascolari finché tali condizioni non siano state escluse.

L'applicazione di misure di prevenzione secondarie non deve dipendere dal dosaggio hsCRP, ma piuttosto da una serie di fattori di rischio (valutazione globale del rischio).

Dosaggi seriali della CRP non devono essere utilizzati per monitorare l'efficacia del trattamento.

Bisognerebbe disporre di due separate determinazioni della CRP (ottimale un intervallo di due settimane) prima di eseguire la valutazione del rischio, a causa della variazione soggettiva della CRP.

Il dosaggio della hsCRP è un marcatore indipendente di rischio.

I livelli di hsCRP possono essere utili per motivare i pazienti a migliorare il proprio stile di vita.

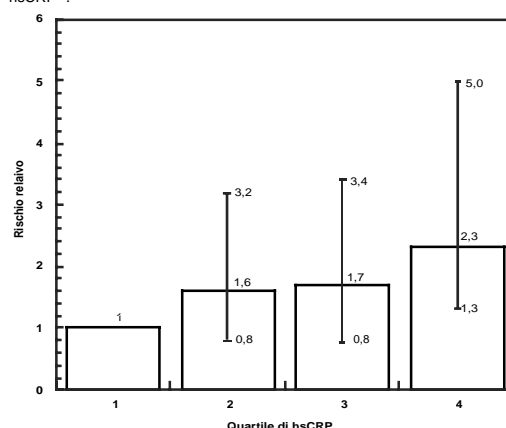
### Interpretazione dei Risultati

Per l'interpretazione dei risultati, bisognerebbe considerare anche eventi clinici recenti risultanti in danno tissutale, infezioni o infiammazione, che potrebbero indurre livelli elevati di CRP.

### Patologia Cardiovascolare e Vascolare Periferica

#### Valutazione del Rischio:

Vari studi hanno valutato l'utilità dei dosaggi di hsCRP per la predizione del rischio di patologie cardiovascolari. In un sottostudio basato su 280 soggetti partecipanti al Physician's Health Study, i campioni basali sono stati analizzati per numerosi biomarcatori, compresa la hsCRP. La popolazione è stata seguita per nove anni per valutare lo sviluppo di patologia arteriosa periferica (PAD). Il grafico seguente mostra il rischio relativo (intervallo di confidenza del 95%) di futuro sviluppo di PAD in funzione del quartile della hsCRP<sup>12</sup>.



Lo AHA/CDC Scientific Statement<sup>2</sup> offre le seguenti linee guida per la valutazione del rischio:

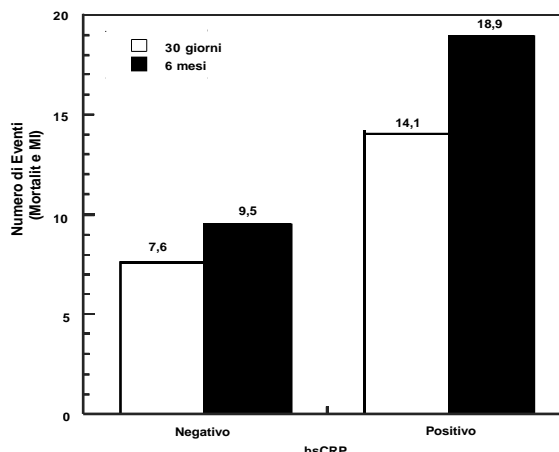
Rischio	hsCRP (mg/L)
Basso	< 1,0
Medio	1,0 - 3,0
Elevato	> 3,0

### Stratificazione del Rischio:

Per pazienti con sindromi coronariche acute, il dosaggio di hsCRP può offrire informazioni prognostiche.

Un valore di CRP > 10 mg/L in fase iniziale (6 - 24 ore dopo comparsa dei sintomi), si è dimostrato indicativo di aumentato rischio di eventi cardiaci ricorrenti<sup>2</sup> a breve termine (30 giorni - 1 anno).

Un sottostudio su 447 pazienti nel CAPTURE trial ha studiato le implicazioni cliniche di livelli elevati di CRP per la stratificazione del rischio in pazienti con angine instabile. Come indicato nel seguente grafico, pazienti con CRP > 10 mg/L hanno evidenziato un maggior numero di eventi (mortalità o MI) rispetto a pazienti con CRP < 10 mg/L<sup>13</sup>.



### Intervallo di Riferimento

I valori attesi per soggetti sani riportati in letteratura sono generalmente  $\leq 3$  mg/L<sup>14,15</sup>. L'intervallo normale per la CRP nel siero di 2147 soggetti apparentemente sani utilizzando il test **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** è risultato pari a<sup>16</sup>:

90%	1,69 mg/L
95%	2,87 mg/L

Un sottogruppo dello Stanislas Cohort è stato esaminato in questo studio<sup>17</sup>. Il gruppo utilizzato era composto da 1151 uomini e 996 donne in età da 5 a 71 anni. Tutti i partecipanti erano di ascendenza europea, ed esenti da patologie serie o croniche (quali tumori o patologie cardiovascolari) diagnosticate in precedenza, esclusi i soggetti in terapia antinfiammatoria o antibiotica.

Poiché la CRP è un indicatore non specifico per un'ampia gamma di processi patologici, e poiché gli intervalli di riferimento vengono influenzati da molteplici fattori che possono differire per ciascuna popolazione presa in considerazione, ogni laboratorio dovrebbe determinare il proprio intervallo di riferimento.

### Caratteristiche Analitiche

#### Sensibilità

La sensibilità analitica del test viene determinata dal limite inferiore della curva di calibrazione e quindi dipende dalla concentrazione della proteina nello N Rheumatology Standard SL. Un tipico limite di rilevazione per la CRP è 0,175 mg/L per dosaggi eseguiti utilizzando per i campioni una diluizione 1:20.

È stato rilevato un coefficiente di variazione (CV) pari a 7,6% su dieci replicati di un campione contenente 0,41 mg/L di CRP.

#### Specificità

Non è nota alcuna reattività crociata.

## Precisión

Le misurazioni con il Reagente **CardioPhase\* hsCRP** hanno prodotto i seguenti coefficienti di variazione (CV):

Precisión			
Concentrazione CRP (mg/l)	Nel ciclo (n=20) CV (%)	Concentrazione CRP (mg/l)	Tra cicli (n=10) CV (%)
0,5	3,1	0,5	2,5
1,1	3,8	1,3	3,8
2,1	3,4	2,1	2,1
15	4,0	14	2,6
26	2,3	24	3,9
62	4,4	56	5,7

## Confronto di Metodo

71 campioni di siero con concentrazioni di CRP fino a circa 500 mg/L sono stati analizzati in parallelo utilizzando il Reagente **CardioPhase\* hsCRP** (y) ed il kit N Latex CRP (x). L'analisi della regressione ha generato la seguente equazione:  $y = 0,95 + 1,43 \text{ mg/L}$ .

## Nota

I valori citati per le caratteristiche analitiche del test rappresentano valori tipici e non devono essere considerati come specifici per il test **CardioPhase\* hsCRP**.

## Bibliografia

Vedi testo Inglese.

\* BN e **CardioPhase** sono marchi registrati di Dade Behring Marburg GmbH negli USA.

BN ProSpec è un marchio registrato di Dade Behring Marburg GmbH negli USA, in Germania ed altri Paesi.

Dade Behring Marburg GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76  
D-35041 Marburg  
www.dadebehring.com



Edizione Marzo 2004

# CardioPhase\* hsPCR

## Campos de aplicación

Reactivos de diagnóstico *in-vitro* para la determinación de la proteína C reactiva (PCR) en sueros humanos, así como también, en plasmas con heparina y EDTA mediante inmunonefelometría con partículas intensificadoras en los sistemas BN\*. En la reacción de fase aguda se observa para una serie de proteínas, entre ellas para la PCR, niveles de concentración elevados. La determinación de la PCR es de utilidad para el reconocimiento y la valoración de diferentes infecciones, deterioro de tejidos y procesos inflamatorios con sus enfermedades asociadas. Los resultados de la PCR obtenidos del rango de medidas de alta sensibilidad (hsPCR) pueden servir como marcadores de riesgo independientes para identificar personas con riesgo a enfermedades cardiovasculares. La determinación de hsPCR en conjunto con los resultados tradicionales clínico-químicos de laboratorio para un síndrome coronario, puede usarse también como una indicación independiente de pronóstico para eventos recurrentes en pacientes con enfermedades coronarias crónicas o síndromes coronarios agudos.

## Significado diagnóstico

La PCR pertenece a las llamadas proteínas de fase aguda cuya concentración en sueros o plasmas aumenta, durante el desarrollo de una respuesta general no específica a procesos infecciosos y no infecciosos. La PCR se forma en el hígado y existe como trazas de proteína en sueros y plasmas normales. Diferentes cuadros clínicos, ocasionados por deterioro de tejidos, infecciones o inflamaciones, pueden en un periodo, entre cuatro y ocho horas después de un evento agudo, llevar a valores elevados de la PCR entre 20 y 500 mg/l<sup>1</sup>. Dado que un valor elevado de la PCR siempre está asociado con un cambio patológico, la determinación de la PCR posee un gran valor informativo para el diagnóstico, terapéutica y control del desarrollo de procesos inflamatorios y las enfermedades asociadas a estos<sup>2,3,4</sup>. Los valores elevados de la PCR no son específicos y por lo tanto no deben ser interpretados sin una historia clínica completa. Estudios han demostrado que la medida de la PCR en ensayos con alta sensibilidad es un indicador fuerte e independiente para predecir el riesgo a enfermedades cardiovasculares y vasculares periféricas futuras<sup>5</sup>. La determinación de hsPCR refuerza también la fuerza informativa de otros marcadores para evaluar el riesgo a enfermedades cardiovasculares y vasculares periféricas<sup>6,7,8</sup>. El aumento del valor de la PCR determinado con el ensayo hsPCR pueden ser de gran ayuda para el pronóstico y el tratamiento de pacientes con síndrome coronario agudo<sup>9</sup>.

## Principio del método

Las partículas de poliestireno recubiertas con un anticuerpo monoclonal específico contra la PCR humana, al mezclarse con muestras que contienen PCR forman agregados, los cuales van a dispersar el rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra. La valoración se hace por comparación con un estándar de concentración conocida. El valor teórico de la PCR en el N Reuma estándar SL está estandarizado contra la preparación de referencia internacional BCR - CRM 470<sup>8,10</sup>.

## Reactivos

### Contenido del envase comercial

Reactivo **CardioPhase\* hsPCR**, N° de pedido OQIY

Cinco frascos c/u con 5 ml o tres frascos c/u con 2 ml

### Composición

El reactivo **CardioPhase\* hsPCR** está compuesto por una suspensión de partículas de poliestireno recubiertas con un anticuerpo monoclonal (ratón) contra la PCR humana.

### Medio de conservación

Reactivo **CardioPhase\* hsPCR**: Gentamicina 6,25 mg/l, Anfotericina 0,625 mg/l.

### Advertencias y medidas de seguridad

- Sólo para ser utilizado en diagnósticos *in-vitro*.
- Cada donación individual de sangre destinada a la preparación del reactivo **CardioPhase\* hsPCR** fue sometida a pruebas para detectar la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 y anti-HIV2. Para la elaboración sólo se utilizaron donaciones con resultados negativos. Independientemente de esto, todos los sueros obtenidos a partir de sangre humana (por ej., sueros y plasmas de pacientes) deben ser manipulados con las precauciones necesarias, siguiendo las medidas de seguridad recomendadas en caso de riesgo biológico, puesto que nunca se puede excluir completamente la existencia de agentes patógenos<sup>11</sup>.

### Preparación de reactivos

El reactivo **CardioPhase\* hsPCR** viene listo para ser usado. Mezclarlo cuidadosamente antes de usarlo por primera vez.

### Estabilidad y condiciones de almacenamiento

Almacenamiento entre +2 y +8 °C.

La fecha de vencimiento viene indicada en la etiqueta;

Estabilidad después de abierto:

Cuatro semanas, siempre que después de usarse se mantenga perfectamente cerrado y almacenado entre +2 y +8 °C; el reactivo no se debe congelar.

Estabilidad en los sistemas BN\*:

Mínimo cinco días, ocho horas por día, o un periodo de tiempo comparable.

**Advertencia:** La estabilidad "on board" depende del sistema BN\* utilizado, así como de las condiciones del laboratorio. Para más información consultar los manuales de operación de los sistemas BN\* II y BN ProSpec®.

### Material adicional necesario

Sistemas BN\*

N Reuma Estándar SL, N° de pedido OQKZ

N/T Reuma Controles SL 1 y SL 2, N° de pedido OQDB y OQDC

Suero control de Apolipoproteínas CHD, N° de pedido OUPH

N Reactivo adicional/precipitación, N° de pedido OUMU

N Diluyente, N° de pedido OUMT

Tapón protector de evaporación para el BN\* II (opcional), N° de pedido OVLE

Otros materiales necesarios vienen descritos en los manuales de operación de los Sistemas BN\*.

### Material a investigar

Para las medidas se deben usar, en lo posible, muestras frescas de sueros humanos (máx. conservadas ocho días entre +2 y +8 °C) o muestras de sueros humanos almacenadas congeladas, así como muestras de plasmas con heparina y EDTA.

OQIY G21 E0542 (1771) CS 6

Si las muestras se congelan dentro de las 24 horas subsiguientes a su toma, se pueden almacenar por debajo de -20 °C durante ocho meses, siempre que se evite su repetida congelación y descongelación. Las muestras de suero deben estar perfectamente coaguladas y no presentar partículas o restos de fibrina después de centrifugadas. Las muestras lipémicas o las muestras congeladas, que presenten turbidez después de su descongelación, deben ser aclaradas por centrifugación (10 min. a aprox 15.000 x g) antes de empezar con la determinación.

## Procedimiento

### Advertencias

- Para una detallada información sobre el manejo de los Sistemas BN\* consultar el manual de operaciones del sistema correspondiente.
- Antes de iniciar el test en el sistema BN\* 100, los reactivos y las muestras tienen que haber alcanzado la temperatura ambiente (entre +15 y +25 °C). En los sistemas BN\* II y BN ProSpec® se pueden utilizar los reactivos almacenados entre +2 y +8 °C directamente en la determinación.
- La medida de las muestras en el sistema BN\* 100 se debe efectuar a la misma temperatura ambiente (máx. 3 °C de desviación) a la que se realizó la curva de referencia.

### Protocolo del ensayo en los sistemas BN\*

Los protocolos de ensayo (tanto para sueros como para plasmas) vienen descritos en los manuales de operación, así como también, en el software del aparato correspondiente. Todas las etapas van a ser realizadas por el sistema de forma automática.

### Preparación de la curva de referencia

Las curvas de referencia se hacen sobre una calibración de varios puntos. Para su elaboración se preparan automáticamente una serie de diluciones del N Reuma estándar SL con el N diluyente. Las diluciones del estándar deben ser usadas dentro de las cuatro horas siguientes. La curva de referencia es válida por cuatro semanas. Esta curva puede ser utilizada por más tiempo, siempre que los controles, con valores teóricos dependientes del sistema, por ej., el N/T Reuma control SL 1 y SL 2 o el suero control de Apolipoproteína CHD se vuelvan a encontrar dentro de su rango de confianza al repetir la medida. Al utilizar un nuevo lote de reactivos se debe hacer una nueva curva de referencia. El rango exacto de medida depende de la concentración de proteína en cada lote del N Reuma estándar SL. Los rangos de referencia típicos vienen descritos en el manual de operaciones del sistema BN\* correspondiente.

### Medida de las muestras de pacientes

Las muestras son diluidas automáticamente 1:400 (PCR1) o 1:20 en el protocolo de ensayo sensible (PCR2) con N diluyente. Las diluciones deben ser medidas dentro de las cuatro horas siguientes. Para los valores medidos que se encuentren por fuera del rango de medida, se puede repetir la medida en una dilución mayor o menor de la muestra (solamente para el protocolo de ensayo PCR1). La repetición de las medidas a otras diluciones de las muestras vienen descrita en los manuales de operaciones de los sistemas BN\*.

### Control de calidad interno

Los N/T Reuma controles SL 1 y SL 2, así como, el suero control de Apolipoproteínas CHD se deben usar después de cada elaboración de una curva de referencia, después de abrir un frasco de reactivo por primera vez, así como, con cada serie de muestras. Los controles se deben tratar en su preparación y valoración como las muestras de pacientes. Los valores teóricos y los rangos de confianza vienen dados en la Tabla de valores teóricos del control correspondiente. Si los resultados de las medidas de los controles se encuentran por fuera de su rango de confianza, se debe repetir su determinación. Si después de la repetición, se comprueba la desviación, se debe realizar una nueva curva de referencia. Los resultados de los pacientes deben ser entregados únicamente cuando la causa de esta desviación sea conocida y eliminada.

### Cálculo de los resultados del análisis

La valoración se efectúa automáticamente en mg/l o en una unidad de medida escogida por el usuario en el sistema BN\*.

### Limitaciones del procedimiento

La presencia de turbidez o partículas en la muestra puede alterar la determinación. Por esta razón, las muestras que contengan partículas deberán ser centrifugadas antes de la determinación. Muestras altamente lipémicas que no se puedan aclarar por centrifugación (10 min. a aproximadamente 15.000 x g), deben ser eliminadas de la determinación. No se pudieron establecer alteraciones por bilirrubina hasta 600 mg/l, hemoglobina libre hasta 10 g/l y triglicéridos hasta 16 g/l. Las muestras de pacientes pueden contener anticuerpos heterofílicos, los cuales pueden conducir a resultados falsos elevados o falsos disminuidos del inmunoen ensayo. Este ensayo está concebido de tal manera que el efecto de los anticuerpos heterofílicos esté minimizado. Sin embargo, no se puede garantizar una supresión completa de este efecto. Los resultados de este test deben ser interpretados siempre juntos con la historia anterior del paciente, el cuadro clínico y con los resultados de otras investigaciones. Debido a los efectos matriz, las muestras para analizar inter-laboratorios y las muestras control pueden producir resultados diferentes, dependiendo del método utilizado para la determinación. Por esta razón, es necesario evaluar estos resultados en relación con valores objetivo específicos del método.

### Recomendaciones del gremio de expertos AHA/CDC\*:

La determinación hsPCR no se debe usar para reemplazar los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales. El uso de normas de tratamiento para el síndrome coronario agudo no debe hacerse dependiente de los niveles de concentración de hsPCR.

En pacientes con enfermedades coronarias crónicas o con síndrome coronario agudo, la determinación de hsPCR es de gran ayuda como una indicación pronóstica independiente.

Al usar este ensayo para valorar el riesgo, en los pacientes que después de una repetición del test muestren una elevación persistente y no clara de hsPCR (>10 mg/l), se debe investigar una causa no cardiovascular.

El gremio de expertos no apoya un screening general de todos los adultos a hsPCR como medida de salud pública.

Los pacientes con indicaciones a una infección aguda, procesos sistémicos inflamatorios o con trauma no deben ser chequeados para valorar el riesgo cardiovascular, mientras que estas condiciones no hayan desaparecido.

El uso de medidas de prevención secundarias no debe depender únicamente de la determinación de hsPCR, si no de una serie de factores de riesgo (una valoración completa del riesgo).

La determinación repetida de la PCR no se debe usar como control de la terapéutica.

Debido a la variabilidad dentro del individuo de los valores de la PCR, la valoración del riesgo se debe realizar en dos medidas separadas de la PCR, de forma ideal en un intervalo de dos semanas. El resultado de hsPCR es un marcador de riesgo independiente.

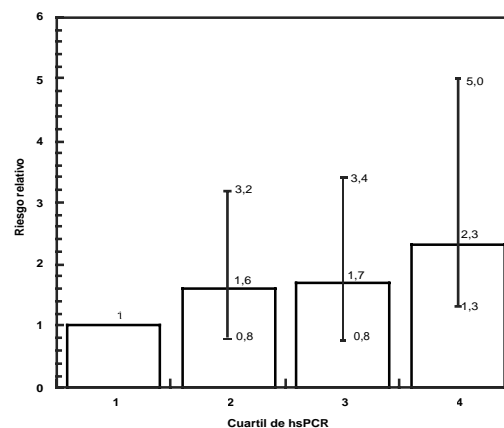
El nivel de hsPCR puede ser útil para motivar al paciente a mejorar su estilo de vida.

### Interpretación de los resultados

Los eventos médicos recientes, que puedan conducir a heridas del tejido, infecciones e inflamaciones y de esta forma posiblemente a un aumento de los niveles de hsPCR, deben ser tenidos en cuenta al interpretar los resultados.

### Valoración del riesgo a enfermedades cardiovasculares y vasculares periféricas:

En varios estudios se ha investigado el uso de la determinación de hsPCR para el pronóstico de enfermedades cardiovasculares. En un subconjunto de 280 participantes de un Physicians' Health Study, se determinaron los valores iniciales para un gran número de biomarcadores, incluyendo la hsPCR. Para establecer el desarrollo de enfermedades arteriales periféricas (EAP = enfermedad arterial periférica) se observó el grupo durante 9 años. La siguiente gráfica muestra el riesgo relativo (95% rango de confianza) para el desarrollo de una EAP como una función del cuartil de la concentración de hsPCR<sup>12</sup>.



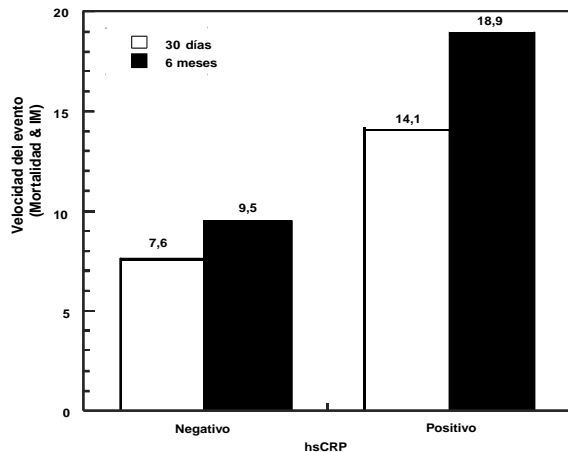
El gremio de expertos AHA/CDC formuló las siguientes normas para la evaluación del riesgo<sup>6</sup>.

Riesgo	hsPCR (mg/l)
Bajo	< 1,0
Promedio	1,0 - 3,0
Alto	> 3,0

#### Estratificación del riesgo

Para pacientes con síndromes coronarios agudos, la medida de hsPCR puede proveer información para su pronóstico. Se demostró, que valores de PCR > 10 mg/l en un periodo inicial (de 6 a 24 horas de la aparición del síndrome), indican un aumento del riesgo a corto tiempo (30 días hasta 1 año) al retorno de un evento cardíaco<sup>6</sup>.

Un subestudio con 447 pacientes del ensayo CAPTURE examinó la influencia clínica de valores elevados de la PCR para la estratificación del riesgo en pacientes con angina pectoris inestable. Como se muestra en la siguiente gráfica, los pacientes con una PCR > 10 mg/l sufrieron más frecuentemente eventos cardíacos (mortalidad o infarto de miocardio (IM)) que pacientes con una PCR < 10 mg/l<sup>12</sup>.



#### Rango de referencia

En la literatura se encuentran como valores típicos para la PCR, en individuos sanos, valores  $\leq 3$  mg/l<sup>14,15</sup>. El rango de referencia para la PCR en el suero de 2147 personas sanas, determinado con el **CardioPhase<sup>®</sup> hsPCR** fue<sup>16</sup> de:

90%	1,69 mg/l
95%	2,87 mg/l

En este estudio se investigó el «Stanislas Cohort», compuesto por 1151 hombres y 996 mujeres con edades entre 5 y 71 años<sup>17</sup>. Todos los participantes eran de origen europeo y no existían diagnósticos sobre enfermedades serias y/o crónicas (como cáncer o enfermedades vasculares).

Personas bajo tratamiento con medicamentos anti-inflamatorios o antibióticos fueron excluidas del estudio. Dado que la PCR es un indicador no específico para diferentes enfermedades y los rangos de referencia están influenciados por muchos factores, que pueden ser diferentes para cada colectivo investigado, cada laboratorio deberá determinar su propio rango de referencia.

#### Características de la determinación

##### Sensibilidad

La sensibilidad de la determinación está definida por el límite inferior de la curva de referencia y depende de la concentración de la proteína en el N Reuma estándar SL.

Un límite de detección típico para la PCR es de 0,175 mg/l, medido para una dilución de las muestras de 1:20. Las 10 repeticiones de una muestra con un contenido de PCR de 0,41 mg/l dieron un coeficiente de variación de 7,6%.

##### Especificidad

No se conocen reacciones de entrecruzamiento entre los anticuerpos utilizados.

##### Precisión

Las determinaciones con el reactivo **CardioPhase<sup>®</sup> hsPCR** dieron los siguientes coeficientes de variación (CV):

Precisión			
Contenido de PCR (mg/l)	intra-assay (n=20) CV (%)	Contenido de PCR (mg/l)	inter-assay (n=10) CV (%)
0,5	3,1	0,5	2,5
1,1	3,8	1,3	3,8
2,1	3,4	2,1	2,1
15	4,0	14	2,6
26	2,3	24	3,9
62	4,4	56	5,7

#### Comparación de métodos

71 muestras de suero con concentraciones de PCR hasta de 500 mg/l, fueron estudiadas paralelamente con el reactivo **CardioPhase<sup>®</sup> hsPCR** (y) y el kit N Látex PCR (x). La comparación de los resultados por análisis de regresión dio la siguiente línea compensatoria:  $y = 0,95x + 1,43$  mg/l.

#### Nota:

Los valores dados para las características del test representan valores típicos y no se deben tomar como especificaciones para el reactivo **CardioPhase<sup>®</sup> hsPCR**.

#### Literatura

Ver texto en inglés

\* BN y **CardioPhase** son marcas de fábrica de Dade Behring Marburg GmbH en USA.

BN ProSpec es una marca de fábrica registrada de Dade Behring Marburg GmbH en USA, Alemania y en otros países.

Dade Behring Marburg GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76  
D-35041 Marburg  
www.dadebehring.com



Edición Marzo 2004

# CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP

#### Campo de aplicación

Diagnóstico *in vitro* para a determinação quantitativa da proteína C-reativa (CRP) no soro humano, heparina e plasma EDTA, através da imunofluorescência de partículas reforçadas com os sistemas BN<sup>®</sup>. Na resposta de fase aguda são observadas concentrações elevadas de uma série de proteínas plasmáticas, entre as quais a CRP. A determinação da CRP tem utilidade na detecção e avaliação de diferentes infecções, lesões de tecidos e processos inflamatórios com as doenças a ele associadas.

Os resultados de CRP medidos no intervalo de medição altamente sensível (hsCRP) podem servir como marcador de risco independente para a identificação de pessoas com risco de doença cardiovascular. Em conexão com os tradicionais resultados laboratoriais clínico-químicos relacionados com a síndrome coronária aguda, a determinação da hsCRP também pode servir como indicação prognóstica independente para os eventos recorrentes nos pacientes com doença coronária crónica ou síndrome coronária aguda.

#### Significado diagnóstico

A CRP pertence ao grupo de proteínas de fase aguda, cujas concentrações de soro ou plasma aumentam no decurso de uma resposta geral, não específica aos processos inflamatórios infecciosos e não infecciosos. A CRP é formada pelo fígado e, normalmente, está presente nos soros e plasmas normais sob a forma de oligoproteína.

Vários quadros clínicos resultantes de lesões de tecidos, infecções ou inflamações podem originar valores elevados de CRP entre 20 a 500 mg/l, num período de tempo de quatro a oito horas após um incidente agudo<sup>1</sup>.

Uma vez que valores elevados de CRP estão sempre associados a alterações patológicas, a determinação da CRP possui um elevado valor informativo para o diagnóstico, terapia e monitorização da evolução de processos inflamatórios e das doenças a eles associadas<sup>2,3,4</sup>. Valores elevados de CRP não são específicos e, por conseguinte, não deverão ser interpretados sem a história clínica completa do paciente. Estudos mostraram que a medição de CRP com testes altamente sensíveis constitui um forte indicador independente do risco de futuras doenças cardiovasculares e vasculares periféricas<sup>5</sup>. A determinação de hsCRP também reforça a força comprovativa dos outros marcadores na avaliação do risco das doenças cardiovasculares e vasculares periféricas<sup>7,8</sup>. Os valores elevados de CRP determinados com os testes hsCRP são úteis para o prognóstico e tratamento de pacientes com síndromes coronárias agudas<sup>5</sup>.

#### Princípio do método

As partículas de poliestireno revestidas com um anticorpo monoclonal específico contra a CRP humana, quando misturadas com amostras que contêm CRP, formam aglutinados que dispersam a luz irradiada. A intensidade da luz dispersa depende da concentração da respectiva proteína na amostra. A avaliação é feita por comparação com um padrão de uma concentração conhecida. O valor analítico de CRP do N Rheuma Standard L foi calibrado tomando por referência o preparado de referência internacional BCR - CRM 470<sup>9,10</sup>.

#### Reagentes

##### Conteúdo da embalagem comercial

Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP**, ref. **OQIY**

Cinco frascos cada com 5 ml ou três frascos cada com 2 ml

##### Composição

O reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** é constituído por uma suspensão de partículas de poliestireno carregadas com um anticorpo monoclonal (rato) contra a CRP.

##### Conservante

Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP**: Gentamicina 6,25 mg/l, anfotericina 0,625 mg/l

##### Advertências e medidas de precaução

- Só para uso diagnóstico *in vitro*.
- Cada dádiva individual de sangue destinada à preparação do Reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** foi previamente examinada com vista à detecção de HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV1 e Anti-HIV2. Na preparação só foram utilizadas dádivas com resultado negativo. Independentemente disso, todos os materiais obtidos a partir de tecidos humanos ou fluidos corporais devem ser manuseados com as precauções devidas, seguindo as medidas de segurança recomendadas em caso de risco biológico, uma vez que o risco de contaminação por agentes patogénicos nunca pode ser inteiramente excluído<sup>11</sup>.

#### Preparação do reagente

O reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** está pronto para uso. Antes do primeiro uso, deverá ser misturado cuidadosamente.

#### Estabilidade e condições de conservação

Conservação entre +2 e +8 °C.

A data de validade está indicada no rótulo.

##### Estabilidade após abertura:

Quatro semanas, desde que seja novamente conservado hermeticamente fechado, imediatamente após o uso, entre +2 e +8 °C; o reagente não pode ser congelado.

##### Estabilidade nos sistemas BN<sup>®</sup>:

Cinco dias, no mínimo, com 8 horas por dia, ou período de tempo equivalente.

**Nota:** A estabilidade "on-board" depende do sistema BN<sup>®</sup> utilizado e das condições laboratoriais. Os manuais de utilização dos sistemas BN<sup>®</sup> II e BN ProSpec<sup>®</sup> S contêm indicações mais amplas.

#### Outros materiais necessários

Sistema BN<sup>®</sup>

N Standard reumatológico SL, ref. OQKZ

N/T Controlos reumatológicos SL/1 e SL/2, ref. OQDB e OQDC

Soro de controlo de apolipoproteína CHD, ref. OUPH

N Reagente suplementar/precipitação, ref. OUMU

N-Diluyente, ref. OUMT

BN<sup>®</sup> II Evaporation Stoppers (opcionais), ref. OVLE

Material de consumo e equipamento descrito no manual de utilização dos sistemas BN<sup>®</sup>.

#### Amostras

Para a medição, deverão ser usadas amostras de soro humano ou plasma heparinizado e EDTA conservadas tão frescas quanto possível (conservadas durante 8 dias, no máximo, entre +2 e +8 °C, ou amostras congeladas. Se as amostras forem congeladas num período de tempo de 24 horas após a colheita, podem ser conservadas durante 8 meses a uma temperatura inferior a -20 °C, se for evitada a repetição da descongelação e da congelação. As amostras de soro devem estar completamente coaguladas e não apresentar partículas ou vestígios de fibrina após a centrifugação. As amostras lipémicas ou as amostras congeladas que se apresentem turvas após a descongelação, deverão ser clarificadas através de centrifugação (10 min. a 15.000 x g) antes da determinação.

#### Procedimento

##### Indicações

- Os pormenores para a manipulação dos sistemas BN<sup>®</sup> deverão ser retirados do manual de utilização.
- Antes da medição no sistema BN<sup>®</sup> 100, é necessário que os reagentes e as amostras tenham atingido a temperatura ambiente (+15 a +25 °C). Os reagentes e as amostras conservadas entre +2 e +8 °C também podem ser utilizados directamente no sistema BN<sup>®</sup> II / BN ProSpec<sup>®</sup>.
- A medição das amostras no sistema BN<sup>®</sup> 100 deverá ser executada a mesma temperatura ambiente (máximo 3 °C de desvio), a que foi registada a curva de referência.

#### Protocolos de ensaio nos sistemas BN<sup>®</sup>

Os protocolos de ensaio (para o soro e o plasma respectivos) estão contidos no manual de utilização e no software do respectivo instrumento. Todos os passos são executados automaticamente pelo sistema.

#### Definição da curva de referência

As curvas de referência são obtidas por uma calibração de pontos múltiplos. Para a definição, são efectuadas, automaticamente, séries de diluição do N Standard reumatológico SL com N Diluyente. As diluições do padrão têm de ser utilizadas dentro de 4 horas. A curva de referência permanece válida durante 4 semanas. Pode ser utilizada para além desse período de tempo, desde que os controlos com os respectivos valores nominais dependentes do processo, como p. ex., os N/T Controlos reumatológicos SL/1 e SL/2 ou o soro de controlo de apolipoproteína CHD se encontrem novamente compreendidos dentro do intervalo de confiança respectivo. Se for utilizado um outro lote de reagente, é necessário efectuar uma nova curva de referência. Os intervalos de medição exactos dependem da concentração de proteína de cada lote de N Standard reumatológico SL. Os intervalos de medição típicos estão indicados no manual de utilização do respectivo sistema BN<sup>®</sup>.

#### Medição de amostras do paciente

As amostras são diluídas automaticamente com N Diluyente na relação 1:400 (CRP1) ou 1:20 com o protocolo de ensaio de sensibilidade (CRP2). As diluições têm de ser medidas num espaço de tempo de 4 horas. Para os valores medidos que se situem fora do intervalo de medição, a medição pode ser repetida a partir de uma diluição de amostra superior ou inferior (somente com o protocolo de ensaio CRP1). As repetições de medição feitas a partir de outras diluições de amostras estão descritas no manual de utilização dos sistemas BN<sup>®</sup>.

#### Controlo interno de qualidade

Os controlos N/T reumatológicos SL/1 e SL/2 ou o soro de controlo da apolipoproteína CHD deverão ser utilizados após o estabelecimento de cada curva de referência, após a primeira utilização de uma carga de reagente e em cada série de amostras. Na preparação e na avaliação, os controlos são tratados como as amostras do paciente. O valor nominal e o intervalo de confiança estão indicados na tabela de valores dos respectivos controlos. Se o resultado das medições de controlo se situar fora do intervalo de confiança, a determinação do controlo deverá ser repetida. Se o desvio for confirmado através da repetição da medição, deverá ser registada uma nova curva de referência. Os resultados para os pacientes não devem ser emitidos, até a causa do desvio ser identificada e eliminada.

#### Cálculo dos resultados da análise

A avaliação é efectuada automaticamente em mg/l ou numa unidade de massa derivada seleccionada pelo utilizador no sistema BN<sup>®</sup>.

## Limitações do procedimento

As turvações e partículas podem interferir na determinação. Por isso, as amostras que contêm partículas deverão ser centrifugadas antes da determinação. As amostras lipêmicas ou turvas que não se conseguem clarificar com a centrifugação (10 min. a aprox. 15.000 x g) deverão ser excluídas da determinação. Não foi possível verificar qualquer interferência com bilirubina até 600 mg/l, hemoglobina livre até 10 g/l e triglicéridos até 16 g/l.

As amostras dos pacientes podem conter anticorpos heterófilos que podem provocar falsos resultados elevados ou falsos resultados baixos nos testes imunológicos. Este teste foi concebido de modo a que a influência do anticorpo heterófilo seja mínima. Todavia, não se pode garantir a supressão completa dos seus efeitos. Os resultados deste teste deverão ser sempre interpretados em conexão com os antecedentes do paciente, o quadro clínico e os outros resultados laboratoriais.

Devido aos efeitos matriciais, as amostras de controlo ou amostras de investigação interlaboratorial podem apresentar resultados diversos, em função dos métodos de determinação utilizados. Por isso, poderá ser necessário proceder à avaliação destes resultados com base em valores específicos do método pré-fixados.

## Recomendações da comissão de peritos AHA/CDC<sup>5</sup>:

A determinação de hsCRP não deverá ser utilizada como substituição para os factores de risco cardiovasculares tradicionais. A utilização das directivas de tratamento para as síndromes coronárias agudas não deverá depender do nível da concentração de hsCRP.

Nos pacientes com doença coronária crónica ou síndrome coronária aguda, a determinação de hsCRP pode ser útil como indicação prognóstica independente.

No caso de o teste ser utilizado para a avaliação do risco, os pacientes que apresentem, depois da repetição do teste, um aumento de hsCRP (>10 mg/l) persistente e incompreensível, deverão ser examinados para detectar causas não cardiovasculares.

A comissão de peritos não apoia a generalização do screening como medida pública de saúde, a todos os adultos, para detectar a hsCRP.

Nos pacientes com indícios de infecção aguda, processos inflamatórios sistémicos ou trauma, não deverá proceder-se ao teste de avaliação do risco cardiovascular, até a situação se extinguir.

A aplicação de medidas de prevenção secundárias deverá depender não apenas da determinação da hsCRP, mas sim de uma série de factores de risco (avaliação global do risco).

A repetição das determinações de CRP, não deverá ser utilizada como controlo terapêutico.

Devido à variabilidade intra-individual do valor de CRP, deverão ser efectuadas duas medições separadas de CRP para a avaliação do risco, sendo ideal um intervalo de duas semanas entre as mesmas.

O resultado de hsCRP é um marcador de risco independente.

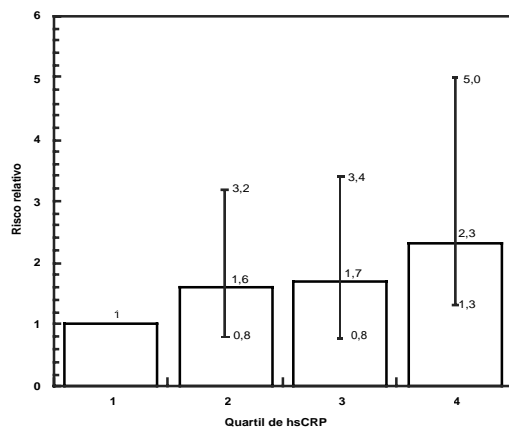
O nível do valor de hsCRP, pode motivar os pacientes a melhorar o seu estilo de vida.

## Interpretação dos resultados

As ocorrências medicinais actuais que possam originar lesões de tecidos, infecções ou inflamações e eventuais valores elevados de CRP, deverão ser tomadas em consideração na interpretação dos resultados.

## Avaliação do risco nas doenças cardiovasculares e doenças vasculares periféricas:

Vários estudos investigaram a utilidade da determinação de hsCRP no prognóstico das doenças cardiovasculares. Num subgrupo de 280 participantes do Physicians' Health Study, foram determinados valores iniciais para uma multiplicidade de biomarcadores, incluindo a hsCRP. O grupo foi observado durante um período de nove anos, para se verificar o desenvolvimento das doenças arteriais periféricas (PAD = peripheral arterial disease). O gráfico seguinte mostra o risco relativo (intervalo de confiança de 95%) de desenvolvimento de uma PAD, como função do quartil da concentração de hsCRP<sup>12</sup>.



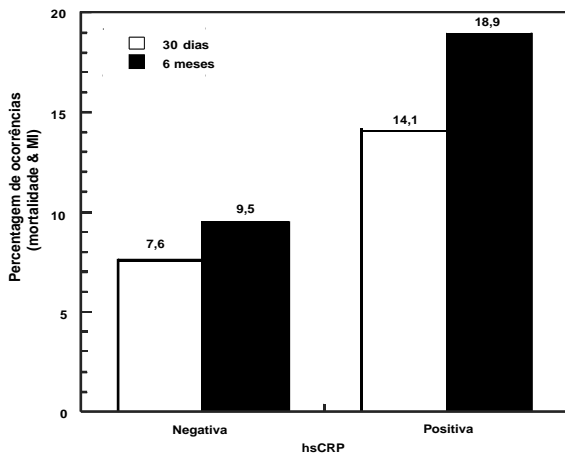
A comissão de peritos AHA/CDC formulou as seguintes directivas para a avaliação do risco<sup>5</sup>:

Risco	hsCRP (mg/l)
baixo	< 1,0
médio	1,0 - 3,0
alto	> 3,0

## Estratificação do risco:

A medição da hsCRP pode contribuir para o diagnóstico dos pacientes com síndromes coronárias agudas. Ficou demonstrado que um valor de CRP > 10 mg/l no estado prematuro (6 a 24 horas após a ocorrência dos sintomas) indicia um aumento de risco momentâneo (30 dias a 1 ano) para a repetição de ocorrências cardíacas<sup>5</sup>.

Um subestudo do estudo CAPTURE com 447 pacientes investigou os efeitos clínicos dos valores elevados de CRP na estratificação do risco em pacientes com angina pectoris instável. Como o gráfico seguinte mostra, os pacientes com CRP > 10 mg/l sofreram, com mais frequência, uma ocorrência cardíaca mortalidade ou enfarte do miocárdio (MI), do que os pacientes com CRP < 10 mg/l<sup>12</sup>.



## Intervalo de referência

Os valores típicos de CRP para os indivíduos saudáveis estão indicados na bibliografia com  $\leq 3$  mg/l<sup>14, 15</sup>. O intervalo de referência para a CRP no soro de 2147 indivíduos testados saudáveis determinado com **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP**, foi de<sup>16</sup>:

90%	1,69 mg/l
95%	2,87 mg/l

Neste estudo foi investigada a "Coorte de Estanislau", constituída por 1151 homens e 996 mulheres com idade compreendida entre 5 e 71 anos<sup>17</sup>. Todos os participantes eram de origem europeia e não existiam diagnósticos de doenças graves e/ou crónicas (como o cancro ou doenças vasculares).

Deste estudo foram excluídos os indivíduos sob o efeito de medicamentos inibidores de inflamação ou antibióticos. Uma vez que a CRP é um indicador não específico para os mais diversos processos de doença e os intervalos de referência estão sujeitos a muitas grandezas de influência que podem ser diferentes para cada população examinada, cada laboratório deverá determinar os seus intervalos de referência próprios.

## Características de performance da determinação

### Sensibilidade

A sensibilidade analítica da determinação é definida pelo limite inferior da curva de referência e depende, assim, da concentração de proteína no padrão N Standard reumatológico SL. O limite típico de detecção para a CRP situa-se em 0,175 mg/l para medições efectuadas com uma diluição de amostra de 1:20. A determinação decúpla de uma amostra com um teor de CRP de 0,41 mg/l forneceu um coeficiente de variação 7,6 %.

### Especificidade

Não se conhecem reacções cruzadas do anticorpo utilizado.

### Precisão

As determinações com o reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** forneceram os seguintes coeficientes de variação (CV):

Teor de CRP (mg/l)	Precisão		
	Intra-ensaio (n=20) CV (%)	Teor de CRP (mg/l)	Inter-ensaio (n=10) CV (%)
0,5	3,1	0,5	2,5
1,1	3,8	1,3	3,8
2,1	3,4	2,1	2,1
15	4,0	14	2,6
26	2,3	24	3,9
62	4,4	56	5,7

### Comparação de métodos

Com o **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP** (y) foram analisados 71 soros com concentrações de CRP até aprox. 500 mg/l e, em paralelo, com o kit de N Latex CRP (x). A comparação de resultados através da análise de regressão forneceu a seguinte equação de regressão:  $y = 0,95x + 1,43$  mg/l.

### Nota

Os valores indicados para a performance da determinação representam resultados típicos e não deverão ser considerados como especificação para o reagente **CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP**.

### Bibliografia

V. Folheto Informativo em inglês.

\* BN e **CardioPhase** são marcas da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA.

BN Pro Spec é uma marca registada da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA, Alemanha e outros países.

Dade Behring Marburg GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76  
D-35041 Marburg  
[www.dadebehring.com](http://www.dadebehring.com)



Edição Março 2004

Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Interpretazione simboli / Clave de los Símbolos / Chave dos Símbolos	
	Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por
	In Vitro Diagnostic Medical Device / In Vitro Diagnosticum / Dispositif Médical Diagnostic In Vitro / Dispositivo Medico per Diagnostica In Vitro / Producto sanitario para Diagnóstico In Vitro
	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de Lot / Numero di Lotto / Número de Lote
	Expiration Date / Verfalldatum / Date de Péréption / data di scadenza / Fecha de vencimiento / termo da validade
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Température de Conservation / Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de armazenagem
	CE Mark / CE-Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / CE Marca / Marca CE
	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence / Codice Catalogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter la Notice d'Utilisation / Istruzioni per l'uso / Consultar Instrucciones para el Uso / Consulte as Instruções de Utilização