

C-Reactive Protein High Sensitivity CRP (HS) Wide Range Reagent Set

Cat.: 320120 Size: 1x20 ml + 1x20 ml
Cat.: 320420 Size: 4x20 ml + 4x20 ml



Használati javaslat

A C-reaktív fehérje mennyiségi meghatározására szérumban vagy plazmában latex részecskék által felerősített immunturbidimetriás módszerrel. Csak *in vitro* diagnosztikai használatra.

Bevezetés

C-reaktív fehérje (CRP) egy akut fázis fehérje, amely részt vesz a komplement aktivációjában, a fagocitózis gyorsításában és azoknak az anyagoknak a méregtelenítésében, amelyek sérült sejtekből származnak. Ilyen módon a CRP a gyulladás egyik legérzékenyebb indikátorának tekinthető. Egy gyulladásos ingerre válaszul a CRP emelkedés 6 órán belül kimutatható. A CRP érzékeny, noha nem tekintik az akut fázis reaktáns specifikus jelzőjének.^{1,2,3}

A C-reaktív fehérje mérését leggyakrabban valahol a testben a testszövet sérülésére vagy egy gyulladásos folyamat megerősítésére használják. A szérumban CRP szintek jellemzően megemelkednek artritisz vagy máj betegségek esetében, mint a hepatitisz A, hepatitisz B vagy az epe cirrózis és súlyos fertőzések esetén, mint a septicus sokk.

A CRP-HS a humán CRP mennyiségi meghatározására való latex részecskék által megnövelt immunturbidimetriás vizsgálat (ITA). Az ITA antitest mennyiségi meghatározásának módszere és az antigén immunprecipitációs komplexek módszerei közleményekben szerepelnek.^{4,5,6,7}

A teszt elve

A latex részecskéket olyan antitestekkel vonták be, amely antitestek specifikusak azokra a humán CRP aggregátumokra, amelyek CRP jelenlétében a mintából az immunkomplexeket képezik. Az immunkomplexek fényszóródás növekedést okoznak, amely arányos a szérumban levő CRP koncentrációval. A fényszóródás a turbiditás mérésével 570 nm-en (abszorbancia) történik. A CRP koncentráció abból a kalibrációs görbéből határozható meg, amelyet ismert koncentrációjú CRP standardokból szerkesztettek.

Reagens

R-1: Puffer reagens

Glicin puffer: 170 mmol

R-2: Latex szuszpenzió

A latex részecskéket nyúl anti-humán CRP antitestekkel vonták be: 0,20% (w/v)

Reagens előkészítése

A reagens használatra készek, nem szükséges előállításuk. Használat előtt óvatosan keverje meg.

Reagens tárolása és stabilitása

- Az összes reagenst 2-8°C között kell tárolni és fénytől óvni.
- A felbontatlan reagensket a lejárati ideg lehet használni, amely a csomagoláson és az edényen van feltüntetve.
- Ha egy reagens flakon felbontott, szorosan lezárva 2-8°C között kell tárolni és 1 hónapon belül felhasználni.

Elővigyázatosságok

- Csak *in vitro* diagnosztikai használatra.
- Ne használja belsőleg emberben vagy állatban. Használatkor a szokásos laboratóriumi elővigyázatosságokat kell követni.
- Ne keverje össze, vagy használja azokat a reagensket, amelyek különböző sarzs számú teszt kitből származnak.
- Ne használja azokat a reagensket a lejárati időn túl, minden adatok minden reagens tartón címkéjén vannak.
- Ne pipettázza szájjal. Kerülje a belelegzést és a bőrrel való érintkezést.
- A reagens ebben a kit-ben <0,1% (w/v) nátrium-azidot, mint tartósítószer tartalmaz. A nátrium-azid robbanó vegyület képezhet a lefolyócsővel. Nagy mennyiségű vízzel hígítsuk fel a reagenst, mielőtt kiöntjük az ömle fölyőbe.
- Az összes mintát, kontrollokat és kalibrátorokat potenciálisan fertőzőknek kell tekinteni, használva a laboratóriumi biztonsági előírásokat (NCCLS M29-T2).⁸

Mintagyűjtés és tárolás

- Frissen vett szérumot használjon, és fel kell használni a mintavétel napján. A mintákat hűtőben (2-8°C) egy hétig vagy -30°C-on legfeljebb 1 évig tárolhatja. Ehhez a vizsgálathoz hígítatlan mintát használjon
- Lítium-heparinos vagy EDTA-s plazma minták szintén használhatók.
- Használjon műanyag csöveket a minta tárolására, ne használjon üveget.
- Gyűjtse a mintákat az NCCLS document H4-A3 útmutatás szerint.⁹

Interferencia

- Az összes interferencia vizsgálatot úgy végezték el, ahogy az NCCLS guideline No. EP7-P interferencia vizsgálatok a klinikai kémiára ajánlotta.⁹
- Hemoglobin 500 mg/dl-ig, lipid (trigliceridek) 3000 mg/dl-ig, bilirubin 30 mg/dl és RF to 560 IU/ml értékekig nem találtak interferenciát ezzel a vizsgálattal.

- Por részecskék vagy egyéb részecske jellegű anyag a reakció oldatában külön fényszóródást eredményezhet, amely hatással lehet a teszt pontosságára.
- Vegye figyelembe Young és mkts.-i egyéb interferáló anyagokra vonatkozó adatait.¹¹

Eljárás

Szállított anyagok

- Reagens 1 (R-1) puffer reagens
- Reagens 2 (R-2) latex szuszpenzió

Szükség, de nem szállított anyagok

- Többpontos kalibrátorok: CRP Multi-Calibrator Set, megközelítő értékek: 5,0, 20,0, 40,0, 160,0, 320,0 mg/l.
- Automata kémiai analízátor, amely pontos abszorbancia leolvasásra alkalmas 570 nm-en ellátva megfelelő kvettákkal és kinetikus meghatározás számítására alkalmas.
- Izotóniás oldat.
- Olyan pipetták, amelyek alkalmasak a kívánt térfogatok adagolására.
- Teszt csövek, üveg vagy műanyag.

Automatizált módszer-általában

Automata kémiai analízátor, amely tud mérni kinetikus reakciót 570 nm-en, alkalmas erre a vizsgálatra. Vegye figyelembe a gyártó által kibocsátott műszerkönyvet a következők szerint: használat vagy funkció, beállítási folyamatok és követelmények, a működés elvei, a jellemzők és specifikációk teljesítménye, kezelési útmutatások, kalibrációs folyamatok, beleértve az anyagokat és/vagy a használt felszerelést, ami használandó, kezelési elővigyázatosságok, korlátok és veszélyességek, szerviz és karbantartás.

Egy példa a Hitachi 717 paramétereire a következő:

TEMPERATURE:	37°C
TEST	[CRP-HS]
ASSAY CODE	[2 POINT]:[28]-[50]
SAMPLE VOLUME	[3]-[2]
R1 VOLUME	[125] [20] [NO]
R2 VOLUME	[125] [20] [NO]
WAVELENGTH	[800]-[570]
CALIB. METHOD	[NONLINEAR][4][6]
UNITS	[MG/L]
STD.(1) CONC.-POS.	[0.0]-[1]
STD.(2) CONC.-POS.	[5.0]-[2]
STD.(3) CONC.-POS.	[20.0]-[3]
STD.(4) CONC.-POS.	[40.0]-[4]
STD.(5) CONC.-POS.	[160.0]-[5]
STD.(6) CONC.-POS.	[320.0]-[6]
SD LIMIT	[999]
DUPLICATE LIMIT	[10000]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (SLOPE)	[32000][INCREASE]
PROZONE LIMIT	[-32000][LOWER]
EXPECTED VALUE	[-99999][99999]
PANIC VALUE	[-99999][99999]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

A paraméterek egyéb automatizált analízátorokra rendelkezésre állnak. Vegye fel a kapcsolatot a technikai szervizzel a specifikus készülék paramétereire vonatkozóan.

Kalibrációs görbe

Ajánlatos, hogy többpontos kalibrációs görbét készítsen, CRP Multi-Calibrator Set-et használva. Ajánlatos, hogy a felhasználó meghatározza a kalibráció gyakoriságát, mert ez függ a készüléktől, és az egyéb futó vizsgálatok típusától/számától. Kezdetben a kalibrációt minden nap el kell végezni.

Minőségi kontroll

Ajánlatos, hogy a kereskedelemben kapható ismert koncentrációjú CRP szérumban kontrollt használjon minden futtatásnál. A 2,5 mg/l és 55,0 mg/l tartományba eső szintek javasoltak.

Számítások

A CRP szinteket az automata analízátor által elkészített kalibrációs görbe segítségével határozzuk meg.

Az eljárás korlátai

1. A CRP-HS mérhető tartománya 0,1-től 320 mg/l-ig, ha a gyártó CRP Multi-Calibrator Set-jét és pontos készülék paramétereit használ.
2. A reagensek nem használhatók a lejáratú időn túl, amely a kít címkéjén szerepel. Ne keverje össze a különböző sarzs számú reagenseket.
3. Ha a CRP koncentráció nagyobb, mint a legmagasabb kalibrátor érték, higitson egy rész mintát négy rész izotóniás sóoldattal és ismétlje meg a mérést. Az eredményeket szorozza meg 5-el, hogy kiegyenlítse a higitást.

Teljesítmény

A következő teljesítményi adatokat kaptuk Hitachi 717 analizátort és standard protokollt használva.

Érzékenység

Ha sóoldatot használunk mintaként, az abszorbancia tartomány percenként $-0,0050$ -tól $0,0050$ -ig változott, míg a standard CRP oldat, amely $10,00$ mg/l, $0,0650$ -tól $0,1000$ -ig a sóoldat vak értékének kivonása után.

Specifitás

Ismert szintű CRP-t ($2,5$ mg/l) tartalmazó szérumot mértek és a mért érték $\pm 10\%$ -on belül volt.

Pontosság

A mintákat kereskedelmi humán CRP kontroll szérummal tesztelték. A tanulmányokat a következő módosított NCCLS document EP5-T2 szerint végezték el.¹²

Napon belül		
Minta I	Minta II	Minta III
N=21	N=21	N=21
Átlag= $0,46$ mg/l	Átlag= $2,28$ mg/l	Átlag= $9,81$ mg/l
SD= $0,03$	SD= $0,05$	SD= $0,11$
CV= $5,74\%$	CV= $1,99\%$	CV= $1,16\%$

Napok között		
Minta I	Minta II	Minta III
N=21	N=21	N=21
Átlag= $0,47$ mg/l	Átlag= $2,18$ mg/l	Átlag= $9,76$ mg/l
SD= $0,03$	SD= $0,07$	SD= $0,12$
CV= $6,97\%$	CV= $3,34\%$	CV= $1,23\%$

Méréstartomány

$0,1 - 320,0$ mg/l

Alsó észlelési határ

$0,1$ mg/l

Funkcionális érzékenység

Legalább $0,15$ mg/l

Korreláció

$y = 1,012x - 0,01$

$r = 0,999$ ($n = 451$, tartomány = $0,03 - 23,9$ mg/l)

x = Company A's latex CRP nefelometriás vizsgálat

y = CRP(HS)

Várható értékek

A CRP-re vonatkozó várható értékek egészséges egyének esetében $3,0$ mg/l alatt van.¹³

Ajánlatos minden laboratórium számára megállapítani saját várható tartományát.

Irodalom

1. Osmond, A.P., et al, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74:739-743, 1977.
2. Pepys, M.B. *Lancet.* 1:653-657, 1981.
3. Schultz, D.R. and P.I. Arnold. *Semin. Arthritis Rheum.* 20 (3):129-147, 1990.
4. Killingsworth, L.M. and J. Savory. *J. Clin. Chem.* 19:403-407, 1973.
5. Lizana, J. and K. Helling. *Clin. Chem.* 20:1181, 1974.
6. Otsuji, S., et al, *Clin. Chem.* 28:2121-2124, 1982.
7. Malkus, H., et al, *Clinica Chimica Acta*, 88:523-530, 1978.
8. NCCLS document, "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
9. NCCLS document, "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3rd Ed. (1991).
10. NCCLS document, "National Evaluation Protocols for Interference Testing", Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, (June 1984).
11. Young, D.S., et al, *Clin Chem* 21:1D, 1975.
12. NCCLS document, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)
13. Liuzzo, G., et al, *N Eng J Med*, 331:417-424, 1994.

14. U.S. Patent nos. 6,248,597; 6,828, 158.

Gyártó

Diagnosticum Zrt.
1047 Budapest
Attila u. 126.



Felülvizsgálva. 4/11