

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania białka C-reaktywnego w surowicy lub osoczu za pomocą testu immunoturbidymetrycznego wzmocnionego cząstkami lateksu przy użyciu analizatora Yumizen C560. **Rx Only.**

Wprowadzenie

Białko C-reaktywne (CRP) jest białkiem ostrej fazy, które bierze udział w aktywacji dopełniacza, przyspieszeniu fagocytozy i detoksykacji substancji uwalnianych z uszkodzonych tkanek. W związku z tym CRP jest uważane za jeden z najbardziej czułych wskaźników stanu zapalnego. W odpowiedzi na bodziec zapalny wzrost CRP można wykryć w ciągu 6 godzin. CRP jest czułym, choć uważanym za niespecyficzny, wskaźnikiem reagentów ostrej fazy.^{1,2,3}

Pomiar białka C-reaktywnego jest najczęściej używany do oceny uszkodzenia tkanek ciała lub do wykrycia stanu zapalnego gdzieś w organizmie. Poziomy CRP w surowicy są zwykle podwyższone u pacjentów z zapaleniem stawów lub chorobami wątroby, takimi jak wirusowe zapalenie wątroby typu A, wirusowe zapalenie wątroby typu B lub marskość żółciowa wątroby, oraz po ciężkich infekcjach, takich jak wstrząs septyczny.

CRP-HS jest przeznaczony do ilościowego oznaczania ludzkiego CRP za pomocą testu immunoturbidymetrycznego wzmocnionego cząstkami lateksu (ITA). Opisano metody ITA do ilościowego oznaczania kompleksów immunoprecypitacyjnych przeciwciał i antygenów.^{4,5,6,7}

Zasada metody

Cząsteczki lateksu opłaszczane przeciwciałem specyficznym dla ludzkiego CRP agregują w obecności CRP z próbki tworząc kompleksy immunologiczne. Kompleksy immunologiczne powodują wzrost rozpraszania światła, który jest proporcjonalny do stężenia CRP w surowicy. Rozpraszanie światła mierzy się przez odczyt zmętnienia (absorbancji) przy 570 nm. Stężenie CRP określa się z krzywej kalibracyjnej opracowanej na podstawie wzorców CRP o znanym stężeniu.

Odczynniki

R-1: Odczynnik buforujący: Bufor glicynowy: 170 mM

R-2: Zawiesina lateksowa: Cząsteczki lateksu pokryte króliczymi przeciwciałami przeciw ludzkiemu CRP: 0,20% (wag./obj.)

Przygotowanie odczynnika

Odczynniki są gotowe do użycia i nie wymagają rekonstrukcji. Delikatnie wymieszać przed użyciem.

Przechowywanie i stabilność odczynników

1. Wszystkie odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C i chronić przed światłem. Nieotwarte odczynniki mogą być używane do daty ważności podanej na opakowaniu i etykiecie butelki.
2. Po otwarciu fiolki z odczynnikami przechowywać szczelnie zamkniętą w temperaturze 2-8°C i zużyć w ciągu 1 miesiąca.

Środki ostrożności i zagrożenia

1. Wyłącznie do diagnostyki in vitro. Nie stosować wewnątrznie u ludzi i zwierząt. Należy przestrzegać zwykłych środków ostrożności przy obchodzeniu się z odczynnikami laboratoryjnymi.
2. Nie mieszać ani nie używać odczynników z jednego zestawu testowego z odczynnikami z serii o innym numerze.
3. Nie używać odczynników po upływie terminu ważności podanego na etykiecie każdego pojemnika z odczynnikami.
4. Nie pipetować ustami. Unikać połknięcia i kontaktu ze skórą.
5. Odczynniki w tym zestawie zawierają <0,1% (w/v) azodyku sodu jako środek konserwujący. Azodyk sodu może tworzyć związki wybuchowe w metalowych przewodach kanalizacyjnych. W przypadku usuwania odczynników przez armaturę wodno-kanalizacyjną należy spłukać je dużą ilością wody.
6. Wszystkie próbki, kontrole i kalibratory należy traktować jako potencjalnie zakaźne, stosując bezpieczne procedury laboratoryjne (NCCLS M29-T2)⁸

Zagrożenia:

R1 i R2: Klasyfikacja zagrożeń: Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

Piktogram: niewymagany.

Hasło ostrzegawcze: Nie wymagane.

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

Zwroty wskazujące środki ostrożności: Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

Zapoznaj się z kartą charakterystyki tego produktu (SDS-C7568) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300.

Pobieranie i przechowywanie próbek

1. Preferowana jest świeżo pobrana surowica, którą należy wykorzystać w dniu pobrania. Próbkę można również przechowywać w lodówce (2-8°C) przez tydzień lub w temperaturze -30°C przez okres do 1 roku. Do tego testu użyj nierozcieńczonych próbek.
2. Można również użyć próbek osocza z heparyną litową lub EDTA.
3. Do przechowywania próbki używaj plastikowych probówek, nie używaj szkła.
4. Pobrać próbki zgodnie z dokumentem NCCLS H4-A3.⁹

Interferencje

1. Wszystkie badania interferencji przeprowadzono zgodnie z procedurami zalecanymi w wytycznych NCCLS nr EP7-P dotyczących badań interferencji w chemii klinicznej.¹⁰
2. Hemoglobina do 500 mg/dl, lipidy do 900 mg/dl, bilirubina do 30 mg/dl i RF do 560 IU/ml nie zakłócają tego testu.
3. Cząsteczki pyłu lub inne cząstki stałe w roztworze reakcyjnym mogą powodować zewnętrzne rozpraszanie światła, co może wpływać na dokładność tego testu.
4. Patrz Young i in., aby zapoznać się z innymi substancjami zakłócającymi.¹¹

Materiały dostarczone

1. Odczynnik 1 (R-1) Odczynnik buforowy
2. Odczynnik 2 (R-2) Zawiesina lateksowa

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

Materiały wymagane, niedostarczaned

1. Analizator Yumizen C560
2. Instrukcja obsługi do analizatora Yumizen C560
3. Multi-point calibrators: CRP Multi-Calibrator Set, numer katalogowy C7568-CAL.
4. CRP control Set, numer katalogowy C7568-CTL
5. Izotoniczna sól fizjologiczna

Krzywa kalibracyjna

Zaleca się opracowanie wielopunktowej krzywej kalibracji przy użyciu zestawu wielu wzorców CRP. Zaleca się, aby użytkownik określił częstotliwość kalibracji, która zależy od urządzenia i typu/liczby innych przeprowadzanych testów. Początkowo kalibrację należy przeprowadzać codziennie. Badania stabilności kalibracji wykazały, że krzywa kalibracji będzie stabilna przez co najmniej 14 dni.

Kontrola jakości

Zaleca się, aby wszystkie serie testów obejmowały dostępną w handlu surowicę kontrolną o znanym stężeniu CRP. Zalecane są poziomy w zakresie od 2,5 mg/l do 55,0 mg/l. Kontrolę jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Ograniczenia procedury

1. CRP-HS ma mierzalny zakres od 0,1 do 320,0 mg/l przy użyciu zestawu multikalibratorów CRP producenta i prawidłowych parametrów aparatu.
2. Odczynników nie należy używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie zestawu. Nie mieszać odczynników o różnych numerach serii.
3. Jeśli stężenie CRP jest większe niż najwyższa wartość kalibratora, rozcieńcz jedną część próbki czterema częściami izotonicznego roztworu soli i powtórz test. Pomnóż wyniki przez 5, aby skompensować rozcieńczenie.

Wartości oczekiwane

Oczekiwana wartość CRP u osób zdrowych wynosi poniżej 3,0 mg/l.¹³ Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny oczekiwany zakres.

Charakterystyka testu

1. Zakres wartości: 0.1-320.0 mg/L.
2. Korelacja: przeprowadzono badanie pomiędzy Yumizen C560 i podobnym analizatorem przy użyciu tej metody, w wyniku czego uzyskano następujące wyniki:

Metoda	CRP
N	99
Srednia CRP (mg/L)	27.33
Zakres (mg/L)	0.0-311.6
Odchylenie standardowe	59.84
Regresja	$y = 1.055x - 0.96$
Współczynnik korelacji	0.9980

3. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.¹²

Próbka	W ciągu dnia			Całkowita		
	NISKA	SREDNIA	WYSOKA	NISKA	SREDNIA	WYSOKA
N	20	20	20	40	40	40
Srednia	2.17	48.04	165.09	2.20	49.31	162.61
Odchylenie standardowe	0.05	0.15	1.11	0.11	2.46	2.89
Współczynnik wariancji (%)	2.2%	0.3%	0.7%	4.8%	5.0%	1.8%

4. Czulość: granica wykrywalności 2 SD (95% Conf) = 0.1 mg/L

Następujące dane dotyczące wydajności uzyskano przy użyciu analizatora Hitachi 717 i standardowego protokołu.

5. Swoistość: gdy zmierzy się surowicę zawierającą znany poziom CRP (2,5 mg/L), uzyskana wartość testu mieści się w granicach $\pm 10\%$.

Piśmiennictwo

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.

PARAMETRY CHEMICZNE

Chem:	CRP	Nr.:	214	Typ próbki:	Surowica
Nazwa chem:	CRP wysokoczułe			Wydruk:	CRP
Rodzaj reakcji:	Punktu końcowego			Kierunek reakcji:	Rosnąca
I dł. fali:	570			II dł fali:	
Jednostka:	mg/L			Miejsca dziesiętne:	0.1
Cykl pomiaru próby ślepej:	47	49		Cykl pomiaru próbki:	80 82

	Obj. próbki.	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika.	Rozcieńczalnik
Podstawowa:	4.7 ul	--- ul	--- ul	R1:	120 ul --- ul
Zmniejszona:	4.7 ul	30 ul	120 ul	R2:	120 ul -- ul
Zwiększona:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Próba ślepa	<input checked="" type="checkbox"/> Auto powt.		R4:	--- ul --- ul

Regulacja przesunięcia/nachylenia

Nachylenie: 1	Przesunięcie: 0
Zakres liniowości (podstawowy)	0.1 320
Zakres liniowości (Zwiększony)	___ ___
Zakres liniowości (Zmniejszony)	___ ___
Abs R1/próba ślepa:	___ ___
Pusta odpowiedź:	___ ___
Chemia bliźniacza:	

Limit liniowości:

Zużycie substratu:
Mieszana
absorbancja próby ślepej:
Czas
odkorkowania:
Limit alarmu
odczynnika:
 Rozszerzalność liniowa dla enzymu

Efekt Prozone

Ocena wskaźnika

Dodanie antygeny

Q1:

Q2:

Q3:

Q4:

PC:

ABS:

