

K-ASSAY

C-Reactive Protein (3)

Souprava ke kvantitativnímu stanovení C-reaktivního proteinu (CRP) v séru

Obj.č. KAI-082

ÚČEL POUŽITÍ

Vysoce citlivá souprava je určena ke kvantitativnímu stanovení C-Reaktivního Proteinu (CRP) v séru imunoturbidimetrickou metodou. Měření CRP pomáhá určit míru a rozvoj poškození tělesných tkání, zánětlivých a příbuzných onemocnění.

Určeno pouze k použití *IN VITRO*.

ÚVOD

C-Reaktivní Protein (CRP) se v literatuře popisuje jako protein akutní fáze, účastní se aktivace komplementu, urychlení fagocytózy a detoxikace látek, uvolněných z poškozených tkání. CRP je jedním z nejcitlivějších indikátorů zánětu.

Zvýšení hladiny CRP se projevuje během 6 hodin jako odpověď na zánětlivý proces v organismu. CRP je citlivý, nespecifický indikátor reaktantů akutní fáze. Hladina CRP v séru je zvýšená u pacientů s artritidou nebo onemocněním jater, jako je hepatitida A, hepatitida B, cirhóza jater a u silných infekcí, např. při septickém šoku.

Souprava **K-ASSAY**® CRP je určena pro kvantitativní stanovení lidského CRP imunoturbidimetrickou metodou (ITA). ITA metody pro kvantitativní stanovení imunoprecipitačních komplexů protilátky a antigenu již byly popsány^{4,5,6,7}

PRINCIP TESTU

Latexové částice jsou pokryty protilátkami specifickými pro lidské CRP reagují s CRP, přítomným v séru pacienta za vzniku imunokomplexů. Ty způsobují zvýšení rozptylu světla, který je úměrný koncentraci CRP v séru. Míra rozptylu světla se měří odečtením absorbance při 570 nm.

Koncentrace CRP je určována z kalibrační křivky.

CRP (3) reagentie je kalibrována jednou ze tří kalibračních souprav. Každý kalibrátor umožňuje měření CRP při různých lineárních rozsazích.

SLOŽENÍ SOUPRAVY

Reagentie (v kapalném stavu)

KAI-082

K-ASSAY® CRP (3)



DŮLEŽITÁ UPOZORNĚNÍ

Činidla nesmí být používána vnitřně u zvířat ani u lidí. Dodržujte běžné zásady pro zacházení s laboratorními činidly.

Nepoužívejte společně reagentie ze souprav, majících různě šarže.

Nepoužívejte reagentie s prošlou expirací (údaj je uvedený na obalu).

Nepipetujte ústy. Zabraňte požití a potřísnění kůže.

Reagentie, obsažené v soupravě, obsahují jako konzervant <0.1 w/v% azid sodný. Azid sodný může tvořit v kovovém odpadním potrubí explozivní sloučeniny, proto reagentie při odstraňování naředte dostatečným množstvím vody.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Reagentie jsou připraveny k použití a není třeba je rekonstituovat. Před použitím jemně promíchejte.

USKLADNĚNÍ A STABILITA

Všechny reagentie musí být skladovány v lednici (2-10°C) a chráněny před světlem. Neotevřené reagentie se mohou použít do 1 roku od data výroby, dle data expirace na balení a štítku na lahvičce. Otevřené reagentie spotřebujte nejpozději do 1 měsíce a po použití je důkladně uzavřete a co nejdříve uložte zpátky do lednice.

INTERFERENCE

Hemoglobin, lipidy, revmatoidní faktor a bilirubin nezpůsobují při imunoturbidimetrickém stanovení CRP interference.

Přítomnost prachových nebo jiných pevných částic v reakčním roztoku může způsobit extrémní zákal a tím ovlivnit správnost testu.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Vzorky séra nebo plazmy (EDTA nebo heparin lithný) se odeberou dle obecných zásad pro odběr vzorků určených pro laboratorní testy. Doporučuje se používat čerstvě odebrané sérum a je nutno ho zpracovat během téhož dne, ale vzorky mohou být rovněž po dobu až 1 týdne uloženy v lednici (2 – 10°C) nebo po dobu 1 roku při teplotě -30°C. Zabraňte střídavém zmrazování a rozmrazování vzorků. Velmi lipemická séra nebo zmrazená séra, která se po rozmrazení zakalí je nutno před použitím stočit. Vzorek nezahřívajte. Teplotní inaktivace může způsobit snížení hodnot CRP. Používejte neředěná séra

Pro skladování vzorků používejte plastové zkumavky, ne skleněné.

APLIKACE PRO BIOCHEMCKÉ ANALYZÁTORY

Souprava je vhodná pro biochemické analyzátoary, pracující s dvoureagenčními metodami, které odečítají absorbanci při 570 nm. Uživatel si musí ověřit analytické funkce přístroje. Údaje o dalších vlastnostech přístroje, souvisejících s použitím soupravy na analyzátoary, vyhledejte v návodu k použití od výrobce.

- účel použití nebo funkce přístroje
- instalace přístroje a požadavky na instalaci
- principy činnosti
- charakteristiky a specifikace výkonu
- návod k použití
- provádění kalibrace, včetně materiálu a nutného vybavení
- provozní upozornění, omezení a možná rizika
- servis a údržba

PROVEDENÍ TESTU

Materiál obsažený v soupravě

Reagencie 1 (R-1) pufr 1 x 50 ml
Reagencie 2 (R-2) latex.suspenze 1 x 50 ml

Materiál nutný k provedení testu, který ale není součástí soupravy

Vícebodové kalibrátory:

Standardní rozsah citlivosti: **K-ASSAY**® CRP Multi-kalibrační souprava D, kat.č. KAI-083C, 5 kalibrátorů; přibližné hodnoty: 5, 20, 40, 160, 320 mg/L. (aktuální hodnoty jsou uvedeny v příbalovém letáku).

Vysoce citlivý rozsah: **K-ASSAY**® CRP Multi-kalibrační souprava E, kat.č. KAI-084C, 5 kalibrátorů; přibližné hodnoty : 2,5, 10, 20, 80, 160 mg/L. (aktuální hodnoty jsou uvedeny v příbalovém letáku).

Rozšířený rozsah **K-ASSAY**® CRP Multi-kalibrační souprava F, kat.č. KAI-086C, 5 kalibrátorů; přibližné hodnoty: 10, 40, 160, 320, 480 mg/L. (aktuální hodnoty jsou uvedeny v příbalovém letáku).

K-ASSAY® CRP (3)



Fyziologický roztok

Pipety: pro přesné dávkování požadovaných objemů.

Zkumavky: skleněné nebo plastové

Postup měření

Příklad aplikace na biochemický analyzátoary (Hitachi 717):

Vzorek 3 µl
↓
• ← R-1 (Pufr), 150 µl
↓ 37°C, 5 min.
• ← R-2 (latex.suspenze) 150 µl
↓ 37°C, 5 min.
dvoubodové konečné měření, 800/570 nm.

Poznámka: Nechte všechny reagencie a vzorky zahřát na pokojovou teplotu. Před použitím všechny reagencie opatrně promíchejte. Kalibrátor a vzorky se používají neředěné.

Automatizovaná metoda (příklad)

Nastavení pro biochemický analyzátoary:
CRP(3) standardní citlivost, kalibrátor D

Přístroj:	Hitachi 917
Teplota:	37°C
TEST	(CRP 3)
KÓD ANALÝZY	(2 POINT END)
OBJEM VZORKU	(3)
OBJEM R1	(150)
OBJEM R2	(150)
VLNOVÁ DÉLKA	(800)-(570)
KALIB. METODA	(Spline)
STD.(1)KONC.-POS.	(0,0)-(1)
STD.(2)KONC.-POS	(5,0)-(2)
STD.(3)KONC.-POS	(20,0)-(3)
STD.(4)KONC.-POS	(40,0)-(4)
STD.(5)KONC.-POS	(160,0)-(5)
STD.(6)KONC.-POS	(320,0)-(6)
SD LIMIT	(500)
DUPLIKAČNÍ LIMIT	(32000)
LIMIT CITLIVOSTI	(0)
ABS. LIMIT (SLOPE)	(32000)(INCREASE)
PROZONOVÝ LIMIT	(- 32000)(LOWER)
OČEKÁVANÉ HODNOTY	(- 99999)(99999)
VÝSTRAŽNÉ HODNOTY	(- 99999)(99999)
FAKTOR PŘÍSTROJE	(1,00)

Kalibrační křivka

Je doporučeno provádět 6-bodovou kalibrační křivku s fyziologickým roztokem (0mg/l standard) a dále s výše uvedenými 3 typy kalibrátorů. Ujistěte se, že používáte správný kalibrátor společně se správným aplikačním listem. V závislosti na přístroji a typu a počtu vyšetření určete četnost kalibrací. Zpočátku by se mělo kalibrovat každý den.

Kontrola kvality

Doporučujeme používat kontrolní séra s deklarovanou koncentrací CRP při každém měřicím cyklu.

VÝSLEDKY

Výpočty

Koncentraci CRP určí přístroj pomocí kalibrační křivky.

OMEZENÍ

Před započítáním musí uživatel určit protokol pro soupravu CRP (3). Každý protokol má rozdílný lineární rozsah a doporučený kalibrátor. Je důležité si uvědomit, že každá kalibrační sada má unikátní aplikační parametry pro použití s K-ASSAY CRP (3) reagensii. S chybným protokolem můžete dostat chybné výsledky.

Standardní protokol:

Souprava K-ASSAY CRP (3) měří při použití kalibrátoru D a standardních parametrech v rozsahu 0,1 až 320 mg/l.

Vysoce citlivý protokol:

Souprava K-ASSAY CRP (3) měří při použití kalibrátoru E a parametrech pro vysokou citlivost v rozsahu 0,05 až 160 mg/l.

Protokol pro rozšířený rozsah:

Souprava K-ASSAY CRP (3) měří při použití kalibrátoru F a parametrech pro rozšířený rozsah v rozsahu 0,2 až 480 mg/l.

Nepoužívejte reagensie po datu expirace, uvedeném na obalu. Nemíchejte reagensie různých šarží.

Je-li koncentrace CRP větší než koncentrace nejvyššího kalibrátoru, naředte jeden díl vzorku čtyřmi díly fyziologického roztoku a analýzu opakujte. Získaný výsledek násobte 5.

PARAMETRY SOUPRAVY

Následující údaje byly získány na analyzátoru Hitachi 917.

Citlivost:

Jestliže je jako vzorek použit fyziologický roztok, rozsah změny absorbance po minutě je -0,0050 do 0,0050, zatímco standardní roztok CRP obsahující 10 mg/l je od 0,0650 do 0,1000 po odečtení slepého vzorku.

Specifita

Jestliže měříme sérum obsahující známé hladiny CRP, získaná hodnota je v rozmezí $\pm 10\%$.

Přesnost

Měřené vzorky byly komerční lidské kontrolní CRP sérum.

Zkouška přesnosti:

(po sobě jdoucí měření s CRP kalibrátorem D)

K-ASSAY® CRP (3)



	vzorek I	vzorek II	vzorek III
N	20	20	20
Mean	0.48 mg/L	2.42 mg/L	9.80 mg/L
SD	0.02	0.04	0.09
CV	4.3%	1.6%	0.87%

Zkouška přesnosti:

(měření mezi jednotlivými cykly s CRP kalibrátorem D)
CRP hodnoty byly získány v průběhu 21 dní.

	vzorek I	vzorek II	vzorek III
N	21	21	21
Mean	0.5 mg/L	2.2 mg/L	9.8 mg/L
SD	0.03	0.07	0.12
CV	6.97%	3.35%	1.23%

Rozsah testů

Standardní protokol: 0.1 to 320 mg/L
(0.01 - 32.00 mg/dl)
Vysoce citlivý protokol 0.05 to 160 mg/L
(0.005 - 16.00 mg/dl)
Rozšířený protokol: 0.2 to 480 mg/L
(0.02 - 48.00 mg/dl)

Detekční limit

Standardní protokol: 0.10 mg/L (0.01 mg/dl)
Vysoce citlivý protokol: 0.05 mg/L (0.005 mg/dl)
Rozšířený protokol: 0.20 mg/L (0.02 mg/dl)

Funkční citlivost (nejnižší detekovatelná koncentrace s CV% méně než 20%)

Standardní protokol: 0.10 mg/L (0.01 mg/dl)
Vysoce citlivý protokol: 0.05 mg/L (0.005 mg/dl)
Rozšířený protokol: 0.05 mg/L (0.005 mg/dl)

Korelace

$$y = 1.012x + 0051$$

$$r = 0.999$$

x = latex hsCRP nefelometrický test firmy A

y = K-ASSAY® CRP (3)

INTERFERENCE

Bilirubin C: žádná interference do 30 mg/dl.
Bilirubin F: žádná interference do 30 mg/dl.
Hemoglobin: žádná interference do 500 mg/dl.
Lipid: žádná interference do 3000 mg/dl Interfat.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Očekávané hodnoty CRP u zdravých jedinců jsou od 0,105 do 2,51 mg/l. Tato hodnota je výsledkem měření 612 zdravých jedinců. Doporučujeme, aby si každá laboratoř stanovila svůj vlastní měřicí rozsah.

LITERATURA

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.

OBJEDNÁVKY/CENY /TECHNICKÉ INFORMACE

Zplnomocněný zástupce

Asvena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta



KAMIYA BIOMEDICAL COMPANY

Seattle, WA 98168 USA

www.kamiyabiomedical.com

3

!

Medical Device & QA Services

76, Stockport Road

WA15 7SN

United Kingdom

e-mail: info@mdqa.co.uk