

REF 10228-4 4 x 9 ml / 9 ml

## ODCZYNNIK BIAŁKA C-REAKTYWNEGO (CRP)

Każdy z klinów zawiera 9 ml odczynnika R1 i 9 ml odczynnika R2.

## ZASTOSOWANIE

Odczynnik CRP Medica przeznaczony jest do ilościowego oznaczenia diagnostycznego in-vitro poziomu białka C-reaktywnego (CRP) w ludzkiej surowicy lub osoczu przy użyciu klinicznego analizatora biochemicznego EasyRA®. Pomiar poziomu białka C-reaktywnego pomaga ocenić zakres uszkodzeń w tkankach. Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Do stosowania wyłącznie przez profesjonalny personel.

## OPIS I OBJAŚNIENIE<sup>1,2,3</sup>

Białko C-reaktywne jest obecne w surowicy lub osoczu zdrowego człowieka na poziomie 0–5 mg/L. Podwyższony poziom CRP wskazuje na aktywną fazę reakcji i dokonanie dokładnego pomiaru może być przydane podczas wykrywania infekcji, uszkodzeń tkanek, zaburzeń związanych z stanami zapalnymi oraz innymi podobnymi schorzeniami.

Wzrost wartości CRP jest niespecyficzny i nie powinien być interpretowany bez całościowej oceny historii choroby pacjenta. Poziom CRP mieszczący się w normalnym zakresie może ulec zmianie pod wpływem wielu różnych czynników – należy zawsze przeprowadzić porównanie z poprzednimi pomiarami.

## ZASADY POSTĘPOWANIA

CRP to test immunoturbidymetryczny przeprowadzany z zastosowaniem kolejno dwóch odczynników. Próbkę surowicy lub osocza jest najpierw poddawana działaniu substancji buforowej (R1) zawierającej albuminy surowicy krowiej, a następnie odczynnikowi zawierającemu cząsteczki lateksu powleczone przeciwciałami reagującymi na CRP (R2). Tworzenie się związku przeciwciała z antygenem podczas reakcji jest wynikiem wzrostu zmętnienia, które jest mierzone jako ilość światła pochłanianego przy 600 nm. Wzrost absorbancji jest proporcjonalny do stężenia CRP w próbce surowicy lub osocza. Przygotowując standardową krzywą na podstawie absorbancji, można ocenić stężenie CRP w próbce, stosując procedurę dopasowywania aj.

## ODCZYNNIKI

### Odczynnik CRP (R1):

Odczynnik buforujący z glicyną,	170 mM
Chlorek sodu	100 mM
Wersenian sodu (EDTA disodium) dihydrat soli	50 mM
Albumina surowicy krowiej	1%
Azydek sodu	< 0,1%

### Odczynnik CRP (R2):

Cząsteczki lateksu powleczone przeciwciałami białka C-reaktywnego	
Azydek sodu	< 0,1%

## ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk laboratoryjnych w zakresie bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
2. Materiał ten zawiera azydek sodu dodany jako środek konserwujący. Unikać połknięcia lub kontaktu ze skórą czy błonami śluzowymi. W razie kontaktu ze skórą przemyć narażone miejsce dużą ilością wody. W razie kontaktu z oczami lub połknięcia natychmiast zwrócić się do lekarza o pomoc. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w Karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej.
3. Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i stanu klinicznego pacjenta.
4. Nie używać mytych kuwet.

## **INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYWANIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA**

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik zachowuje stabilność do końca okresu ważności wskazanego na etykiecie, pod warunkiem przechowywania w temperaturze 2–8°C. Odczynniki należy dokładnie wymieszać i doprowadzić do temperatury panującej w systemie EasyRA przez około 30 minut przed użyciem analizatora. Nie używać odczynnika R1, jeśli jest mętny lub nieprzezroczysty.

## **POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE / STABILNOŚĆ PRÓBEK<sup>4</sup>**

Próbki powinny zawierać świeże osocze lub surowicę. Należy je przechowywać schłodzone do temperatury 2–8°C aż do czasu analizy. Próbki można przechowywać maksymalnie przez tydzień w temperaturze 2–8°C. Jeśli konieczne jest przechowanie próbek do analizy przez okres dłuższy niż tydzień, można je zamrozić i przechowywać w temperaturze < -20°C przez okres do 6 miesięcy. Próbki można zamrozić tylko raz. Dodatkowe instrukcje dotyczące pobierania, użycia i przechowywania próbek zamieszczono w CLSI H18-A.

## **PROCEDURA**

### **Dostarczone materiały:**

Pojemnik odczynnika białka CRP, NR REF. 10228-4

### **Wymagane materiały dodatkowe**

Zestaw kalibracyjny Medica EasyCal CRP: NR REF. 10659

Próba kontrolna jakości badania CRP Medica EasyQC®, poziom 1 NR REF. 10797

Próba kontrolna jakości badania CRP Medica EasyQC, poziom 2 NR REF. 10798

Próba kontrolna jakości badania CRP Medica EasyQC, poziom 3 NR REF. 10799

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica, NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica – Chemistry &ISE, NR REF. 10660 *lub*

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica – Chemistry, NR REF. 10661

### **Instrukcja użycia**

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korki i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora Medica EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Używany w ten sposób odczynnik pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora chemicznego Medica EasyRA przez liczbę dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika (maksymalnie 61 dni).

**Uwaga:** Przed umieszczeniem klina w analizatorze i po zdjęciu korków sprawdzić, czy wewnątrz szyjek klina nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, przed przeprowadzeniem badania usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką. Używać oddzielnych wacików lub pipetek do odczynników R1 i R2.

### **Kalibracja**

Kalibrację badania zaleca się przeprowadzać z użyciem kalibratora Medica EasyCal CRP, NR REF. 10659. Stężenie CRP w nieznanych próbkach określa się na podstawie krzywej kalibracji przy użyciu odpowiedniego modelu matematycznego, takiego jak funkcja sklejana. Krzywą kalibracji wyznacza się na podstawie 6 kalibratorów (z zestawu kalibratorów) o różnych poziomach. Odpowiednie wartości kalibratorów podane są w ulotce do zestawu kalibratorów EasyCal CRP. Odstęp między kalibracjami wielopunktowymi (maksymalnie 61 dni) zaprogramowany jest w module RFID na pojemniku odczynnika. Rekalibracja jest wymagana po każdorazowej zmianie partii odczynnika lub wystąpieniu zmian w wartościach kontroli jakości.

### **Kontrola jakości**

Używać materiału do kontroli jakości CRP EasyQC poziom 1 (NR REF. 10797), poziom 2 (NR REF. 10798) i poziom 3 (NR REF. 10799).

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na trzech poziomach codziennie – wtedy, gdy odbywają się testy pacjenta, oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Test należy powtórzyć, upewniając się, że wszystkie instrukcje mieszania i obchodzenia się z odczynnikami są ściśle przestrzegane. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy również stosować się do lokalnych i krajowych wytycznych dotyczących kontroli jakości.

### **Wyniki**

Po zakończeniu oznaczania analizator biochemiczny EasyRA oblicza stężenie CRP każdej z próbek. Stężenie jest określane za pomocą krzywej kalibracji wielopunktowej, przy zastosowaniu odpowiedniego modelu matematycznego, na przykład krzywej skleionej.

### Przewidywane wartości

Każde laboratorium powinno ustalić własny zakres wartości oczekiwanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz populacjami różnych regionów. Raportowane wartości dla CRP wynoszą 0,5–160 mg/L, a stężenie CRP w przeciętnej próbce zdrowego człowieka powinno być  $\leq 5$  mg/L.<sup>5</sup>

### Raportowany zakres i ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia wyniku próbki poza zakres oznaczania)

Analizator biochemiczny EasyRA sygnalizuje każdy wynik powyżej 160 mg/L CRP jako wysoką liniowość („LH”). Próbki o wartościach powyżej 160 mg/L powinny zostać przetestowane dwukrotnie. W przypadku wybrania przez operatora ikony „Re-run” (Uruchom ponownie) próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu jednej trzeciej (1/3) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania CRP do 480 mg/L. Próbki o stężeniu poniżej 0,5 mg/L CRP zostaną oznaczone jako niska liniowość („LL”) i powinny być zgłoszone jako wartość  $< 0,5$  mg/L.

### Charakterystyka wydajności

#### Zakres raportowany

Zakres raportowany wynosi od 0,5 do 160 mg/L. Rozszerzony zakres wynosi od 0,5 do 480 mg/L przy użyciu jednej trzeciej próbki (rozcieńczenie 1:2).

#### Niedokładność / Korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika CRP (Y) w analizatorze EasyRA z porównywalnym odczynnikiem CRP zatwierdzonym przez FDA (X) w analizatorze Hitachi® 911 w badaniach próbek surowicy. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń w analizatorze chemicznym EasyRA w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi w analizatorze Hitachi 911.

Surowica:	Liczba próbek	67	Zakres próbek	0,90 do 153,2 mg/L
	Nachylenie	1,0001	y Wychwytywanie	-0,0175
	Współczynnik korelacji	0,9988	Równanie regresji	$Y = 1,0001x - 0,0175$

\* Hitachi to zarejestrowany znak handlowy Kabushiki Kaisha Hitachi Seisakusho DBA Hitach, Ltd. CORPORATION JAPAN 6-6, Marunouchi 1-chome, Chiyoda-ku Tokio JAPONIA 100-8220.

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odpowiadających sobie próbek surowicy (X) oraz Li-heparynizowanego osocza (Y) z użyciem odczynnika CRP Medica w analizatorze EasyRA. Dane w poniższej tabeli to średnie wartości uzyskane z analizatora EasyRA.

Osocze:	Liczba próbek	51	Zakres próbek	0,51 do 151 mg/L
	Nachylenie	1,0021	y Wychwytywanie	-0,0067
	Współczynnik korelacji	0,999	Równanie regresji	$Y = 1,0021x - 0,0067$

#### Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego poziomu materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno niedokładności wewnątrzseryjnej, jak i całkowitej.

#### Niedokładność wewnątrzseryjna:

Poziom kontroli jakości (mg/L)	Stand. odchyl. (SD) (mg/L)	Współ. zmienności CV (%)
2,7	0,06	2,33
22,8	0,34	1,50
135,0	1,82	1,35

#### Niedokładność całkowita:

Poziom kontroli jakości (mg/L)	Niedokładność całkowita SD (mg/L)	Niedokładność całkowita CV (%)
2,7	0,09	3,32
22,8	0,65	2,85
135,0	3,29	2,44

### Liniowość (CLSI, EP6-A)

Test liniowy w zakresie od 0,5 do 160 mg/L dla CRP, w oparciu o równanie regresji liniowej  $Y = 1,0086x + 0,0526$

Granica próby ślepej (LOB): 0,04 mg/L (CLSI, EP17-A)

Granica wykrywania (LOD): 0,16 mg/L (CLSI, EP17-A)

Limit ilościowania (LOQ): 0,5 mg/L (CLSI, EP17-A)

### Substancje interferujące (CLSI, EP7-A)

Zmiana wartości poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Przebadano następujące substancje:

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla hemoglobiny na poziomie poniżej 1000 mg/dl.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla bilirubiny na poziomie poniżej 30 mg/dl.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla związanej bilirubiny na poziomie poniżej 27 mg/dl.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla trójglicerydów na poziomie poniżej 1750 mg/dl (z zastosowaniem Intralipid®\*).

Nie stwierdzono znaczącej interferencji dla kwasu askorbinowego przy stężeniu do 500 mg/dl.

Nie stwierdzono znaczącej interferencji dla czynnika reumatoidalnego przy stężeniu do 1024 IU/ml.

Nie zaobserwowano efektu haka przy stężeniu CRP na poziomie 2800 mg/L.

\*Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Pharmacia AB, Clayton, NC.

### Piśmiennictwo

1. Kuller L.H., Tracy T.R., Shaten J., Mellahn E. (1996) Relation of C-reactive Protein and Coronary Heart Disease in the MRFIT nest case-control study. American Journal of Epidemiology Tom 144 (6):537-547. .
2. Thomas S.G., Kienast J., Pyke S., Haverkate F., van de loo J. (1995) Hemostatic Factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. New England Journal of Medicine 332: 635-641.
3. Kindmark CO. The concentration of C-reactive Protein in sera from healthy individuals. Scand J Clin Lab Invest 1972;229: 407-411.
4. Tietz, N.W. (Ed), Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders C., Toronto, 636-638, 937 (1970).
5. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th edition, Saunders Elsevier, St. Louis, MO 480-483 (2006).

### Parametry oznaczania EasyRA (CRP)

Podstawowa długość fali (nm)	600
Drugorzędna długość fali (nm)	nd.
Typ reakcji	Specjalny punkt końcowy (test immunologiczny)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Brak
Próba zerowa dla próbki	Brak
Czas reakcji	10 min
Przerwa między kalibracjami (maksymalna)	61 dni
Stabilność odczynnika w systemie	61 dni

### Surowica/Osocze

Objętość próbki (µl)	3,0
Obj. rozcieńczalnika 1 (µl)	20
Obj. rozcieńczalnika 2 (µl)	20
Objętość odczynnika R1 (µl)	90
Objętość odczynnika R2 (µl)	90
Miejsca po przecinku (domyślnie)	1
Jednostki (wartości domyślne)	mg/L
Jednostki (SI)	mg/dl
Współczynnik rozcieńczenia	1:2 (1/3 próbki użyta do rozszerzenia zakresu pomiaru)
Liniowość	0,5-160 mg/L