

**Método inmunoturbidimétrico para la determinación cuantitativa de proteína C reactiva (PCR)****SIGNIFICACION CLINICA**

La proteína C reactiva (PCR) es uno de los reactantes de fase aguda más sensibles que se sintetizan en el hígado. Sus niveles se incrementan en respuesta a estímulos agudos o crónicos de tipo infeccioso, inflamatorio o en caso de daño tisular.

La determinación de PCR es muy útil tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de estados inflamatorios, dado que el grado de incremento de PCR y su duración, se correlacionan estrechamente con la gravedad y actividad de la enfermedad inflamatoria.

**FUNDAMENTOS DEL METODO**

La proteína C reactiva reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez provocada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de PCR en la muestra y puede medirse espectrofotométricamente.

**REACTIVOS PROVISTOS**

**A. Reactivo A:** solución fisiológica tamponada, pH 7,6.

**B. Reactivo B:** anticuerpos monoespecíficos anti-PCR.

**REACTIVOS NO PROVISTOS**

- Solución fisiológica.
- **PCR Calibrador en serie Turbitest AA** de Wiener lab.

**INSTRUCCIONES PARA SU USO**

**Reactivos Provistos:** listos para usar.

**PRECAUCIONES**

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

**ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

**Reactivos Provistos:** estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

**MUESTRA**

Suero

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** no emplear muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas. Las muestras que poseen precipitado deben ser centrifugadas previo al ensayo. No se observan interferencias por bilirrubina hasta 22 mg/dl (220 mg/l), ni factor reumatoideo hasta 500 UI/ml. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la muestra debe ser preferentemente fresca. En caso de no procesarse en el momento, puede ser conservada 2 meses en refrigerador (2-10°C) o 3 años congelada (-20°C). Evitar los congelamientos y descongelamientos repetidos.

**MATERIAL REQUERIDO** (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos de Kahn o hemólisis.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro.

**CONDICIONES DE REACCION**

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 80 ul
- Volumen final de reacción: 1,28 ml

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

**PROCEDIMIENTO****CURVA DE CALIBRACION**

En tubos de Kahn debidamente marcados colocar:

<b>PCR Calibrador en serie (1; 3; 5; 6; 7; 8)</b>	80 ul
<b>Reactivo A</b>	1000 ul

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia de cada Calibrador a 340 nm (DO<sub>1</sub>) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

<b>Reactivo B</b>	200 ul
-------------------	--------

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exactos a 37°C e inmediatamente leer la absorbancia a 340 nm (DO<sub>2</sub>), llevando el aparato a cero con agua destilada. Calcular la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) para cada calibrador.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia  $\Delta A$  en función de la concentración en mg/l de PCR.

#### PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

En tubos de Kahn debidamente marcados, colocar:

<b>Muestra</b>	80 ul
----------------	-------

<b>Reactivo A</b>	1000 ul
-------------------	---------

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia a 340 nm ( $DO_1$ ) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

<b>Reactivo B</b>	200 ul
-------------------	--------

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exactos a 37°C e inmediatamente leer la absorbancia a 340 nm ( $DO_2$ ), llevando el aparato a cero con agua destilada.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolarse esta  $\Delta A$  en la curva de calibración para determinar la concentración de PCR (mg/l) correspondiente a la muestra estudiada. Las muestras con absorbancias superiores al último punto de calibración, deben ser diluidas (1:2 ó 1:4) con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por la dilución efectuada.

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA.

Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA.

Los Controles son procesados de la misma manera que las muestras.

#### VALORES DE REFERENCIA

0 - 5 mg/l

En general se recomienda que cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.

Se aconseja efectuar dos o más determinaciones periódicas para seguir la evolución de la enfermedad.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias interferentes conocidas, en MUESTRA.
- Se recomienda realizar una recalibración completa, cuando se cambia de lote de reactivo o cuando el control de calidad así lo determina.
- En el curso de procesos inflamatorios la PCR puede alcanzar niveles 1000 veces más elevados que el nivel normal. Se recomienda diluir las muestras 1:5 ó 1:10 en caso de obtener resultados elevados o de sospechar procesos inflamatorios severos.
- Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición, únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** se evaluó a través de una modificación

del protocolo EP5-A del CLSI. Para ello se procesaron, dos muestras con distinto nivel de PCR. Con los datos obtenidos, se calculó la precisión intraensayo y total.

#### Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
11,9 mg/l	± 0,28 mg/l	2,4 %
40,6 mg/l	± 0,49 mg/l	1,2 %

#### Precisión total

Nivel	D.S.	C.V.
11,9 mg/l	± 0,72 mg/l	6,0 %
40,6 mg/l	± 1,30 mg/l	3,2 %

**b) Límite de detección:** es la mínima cantidad del analito capaz de ser detectada como una muestra distinta de cero y corresponde a la concentración 0,5 mg/l de PCR.

**c) Rango de medición:** corresponde al intervalo de valores exactamente cuantificables y se extiende de 2 mg/l al último punto de calibración (aproximadamente 200 mg/l de PCR).

**d) Efecto prozona:** no se evidencia efecto prozona hasta 1000 mg/l PCR.

Los datos de performance fueron obtenidos empleando analizador automático Konelab 60i, por lo tanto dichos valores pueden variar cuando se emplea otro analizador o técnica manual.

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

#### PRESENTACION

60 ml: 1 x 50 ml Reactivo A

1 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1683267)

84 ml: 2 x 35 ml Reactivo A

2 x 7 ml Reactivo B

(Cód. 1008125)\*

#### BIBLIOGRAFIA

- Ledue, T. et al - Clin Chem 49/8:1258 (2003).
- Otsuji, S. - Clin. Chem. 28/10:2121 (1982).
- Dati, F. - J. of IFCC VIII/1:29 (1996).
- Dati, F. - Clin. Chem. Lab. Med. 39/11:1134 (2001).
- WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2 (2002).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5ª Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5ª ed., 2000.
- EP5-A (Vol.19 - N°2) Evaluation of precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline - NCCLS.
- EP17-A (Vol.24 - N°34) Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline - NCCLS.

**Método imunoturbidimétrico com látex para a determinação quantitativa de proteína C reativa (PCR)****SIGNIFICADO CLÍNICO**

A proteína C reativa (PCR) é um dos reagentes de fase aguda mais sensível que se sintetizam no fígado. Seus níveis se incrementam em resposta a estímulos agudos ou crônicos de tipo infeccioso, inflamatório ou em caso de ferimento tissular. A determinação de PCR é muito útil tanto para o diagnóstico como em tratamento de estados inflamatórios, posto que o grau de incremento de PCR e sua duração, correlacionam-se estreitamente com a gravidade e atividade da doença inflamatória.

**FUNDAMENTOS DO MÉTODO**

A proteína C reativa reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de PCR na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

**REAGENTES FORNECIDOS**

**A. Reagente A:** solução fisiológica tamponada, pH 7,6.

**B. Reagente B:** anticorpos monoespecíficos anti-PCR.

**REAGENTES NÃO FORNECIDOS**

- Solução fisiológica.

- **PCR Calibrador em serie Turbitest AA**, da Wiener lab.

**INSTRUÇÕES PARA USO**

**Reagentes Fornecidos:** prontos para uso.

**PRECAUÇÕES**

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

**ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO**

**Reagentes Fornecidos:** são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

**AMOSTRA**

Soro

**a) Coleta:** obter soro da maneira habitual.

**b) Aditivos:** não são necessários.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não utilizar

soros hemolisados, lipêmicos ou contaminados. As amostras que apresentem precipitado, devem-se centrifugar prévio à prova.

Não se observam interferências por bilirrubina até 22 mg/dl (220 mg/l) nem fator reumatóide até 500 UI/ml.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a amostra deve ser fresca. Caso não seja processada na hora, pode ser conservada 2 meses sob refrigeração (2-10°C) ou 3 anos congelada (-20°C). Evitar os congelamentos e descongelamentos repetidos.

**MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)**

- Espectrofotômetro.

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Tubos de Kahn ou hemólise.

- Banho-maria a 37°C.

- Relógio ou timer.

**CONDIÇÕES DE REAÇÃO**

- Comprimento de onda: 340 nm

- Temperatura de reação: 37°C

- Tempo de reação: 10 minutos

- Volume de amostra: 80 ul

- Volume final de reação: 1,28 ml

Os volumes de amostra e reagentes podem variar-se proporcionalmente, sem que sejam alterados os fatores de cálculo.

**PROCEDIMENTO****CURVA DE CALIBRACION**

Em tubos de Kahn corretamente marcados, colocar:

<b>PCR Calibrador em serie (1; 3; 5; 6; 7; 8)</b>	80 ul
---	-------

<b>Reagente A</b>	1000 ul
-------------------	---------

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância de cada Calibrador a 340 nm (DO<sub>1</sub>) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

<b>Reagente B</b>	200 ul
-------------------	--------

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorbância a 340 nm (DO<sub>2</sub>) zerando o aparelho com água destilada. Calcular a diferença de absorbância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) para cada calibrador. Representar numa folha de papel marcada com milíme

tros as diferenças de absorvância ( $\Delta A$ ) em função da concentração em mg/l de PCR.

#### PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

Em tubos de Kahn corretamente marcados, colocar:

**Amostra** 80 ul

**Reagente A** 1000 ul

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorvância a 340 nm ( $DO_1$ ) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

**Reagente B** 200 ul

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorvância a 340 nm ( $DO_2$ ) zerando o aparelho com água destilada.

#### CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Calcular a diferença de absorvância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) correspondente a cada amostra analisada. Comparar os dados ( $\Delta A$ ) na curva de calibração para determinar a concentração de PCR (mg/l) que corresponde à amostra estudada.

As amostras com absorvância superior à do último ponto de calibração, devem ser diluídas (1:2 ou 1:4) com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar o resultado obtido pela diluição realizada.

#### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Control Imunológico nível 1 Turbitest AA.

Control Imunológico nível 2 Turbitest AA.

Os Controles devem ser processados da mesma forma que as amostras.

#### VALORES DE REFERÊNCIA

0 - 5 mg/l

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

É aconselhável realizar duas ou mais determinações periódicas para seguir o desenvolvimento da doença.

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.
- Recomenda-se realizar uma re-calibração completa, quando é utilizado outro lote de reagente ou quando seja necessário segundo o controle de qualidade.
- Durante o desenvolvimento de processos inflamatórios, a PCR pode aumentar até 1000 vezes o nível normal. Recomenda-se diluir as amostras 1:5 ou 1:10 no caso de obter resultados elevados ou de suspeita de processos inflamatórios graves.
- A fim de preservar a integridade dos reagentes devem-se evitar as contaminações, utilizando para a medição unicamente micropipetas preferivelmente limpas e secas.

#### DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** determinou-se através de uma modificação do protocolo EP5-A do CLSI. Processaram-se duas

amostras com diferentes níveis de PCR. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

#### Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
11,9 mg/l	$\pm 0,28$ mg/l	2,4 %
40,6 mg/l	$\pm 0,49$ mg/l	1,2 %

#### Precisão total

Nível	D.P.	C.V.
11,9 mg/l	$\pm 0,72$ mg/l	6,0 %
40,6 mg/l	$\pm 1,30$ mg/l	3,2 %

**b) Limite de detecção:** é a mínima quantidade do analito capaz de ser detectada como uma amostra distinta de zero. Corresponde à concentração de 0,5 mg/l de PCR.

**c) Faixa de medição:** corresponde ao intervalo de valores exatamente quantificáveis e compreende desde 2 mg/l até o último ponto de calibração (aproximadamente 200 mg/l de PCR).

**d) Fenômeno prozona:** não é evidente o efeito até 1000 mg/l de PCR.

Os dados de desempenho obtiveram-se empregando analisador automático Konelab 60i, portanto estes valores podem variar cada vez que seja utilizado outro analisador ou técnica manual.

#### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Consultar as adaptações específicas de cada analisador.

#### APRESENTAÇÃO

60 ml: 1 x 50 ml Reagente A

1 x 10 ml Reagente B

(Cód. 1683267)

84 ml: 2 x 35 ml Reagente A

2 x 7 ml Reagente B

(Cód. 1008125)\*

#### REFERÊNCIAS

- Ledue, T. et al - Clin Chem 49/8:1258 (2003).
- Otsuji, S. - Clin. Chem. 28/10:2121 (1982).
- Dati, F. - J. of IFCC VIII/1:29 (1996).
- Dati, F. - Clin. Chem. Lab. Med. 39/11:1134 (2001).
- WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2 (2002).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5ª Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5ª ed., 2000.
- EP5-A (Vol.19 - Nº2) Evaluation of precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline - NCCLS.
- EP17-A (Vol.24 - Nº34) Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline - NCCLS.



## Immunoturbidimetric method for quantitative determination of C Reactive Protein (CRP)

### SUMMARY

C Reactive Protein (CRP) a protein synthesized in liver, is one of the most sensitive acute phase reactants. Its levels are increased in response to acute or chronic infectious and inflammatory process, or when tissue damage occurs. Since the increase in CRP levels and its duration are closely related to the severity and activity of the inflammatory disease, CRP determination is useful for the diagnosis and treatment of inflammatory condition.

### PRINCIPLE

The CRP reacts with the specific antibody producing insoluble immune complexes. The turbidity caused by these immune complexes is proportional to the CRP concentration in sample and can be measured spectrophotometrically.

### PROVIDED REAGENTS

- A. Reagent A:** saline buffer solution, pH 7.6.  
**B. Reagent B:** monospecific anti-CRP antibodies.

### NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution
- Wiener lab.'s **PCR Calibrador en serie Turbitest AA**

### INSTRUCTIONS FOR USE

**Provided Reagents:** ready to use.

### WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use. All samples from patients should be handled as capable of transmitting infection. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories. The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

### STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze.

### SAMPLE

Serum

- a) Collection:** obtain in the usual way.  
**b) Additives:** not required.  
**c) Known interfering substances:** do not use hemolyzed, lipemic or contaminated samples. Before testing, particles in samples should be removed by centrifugation. No interferences are observed from bilirubin up to 22 mg/dl

(220 mg/l), nor rheumatoid factor up to 500 IU/ml.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** sample should be preferably fresh. In case it cannot be processed immediately, the sample can be kept for 2 months at 2-10°C or up to 3 years frozen (-20°C). Avoid repeated freezing and thawing.

### REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Square spectrophotometric cuvettes.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes.
- Kahn or hemolysis tubes.
- Water bath at 37°C.
- Stopwatch.

### ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm
- Reaction temperature: 37°C
- Reaction time: 10 minutes
- Sample volume: 80 ul
- Final reaction volume: 1.28 ml

Sample and reagents volumes may be proportionally changed without affecting the calculation factors.

### PROCEDURE

#### CALIBRATION CURVE

In Kahn tubes duly labeled, place:

<b>PCR Calibrador en serie (1; 3; 5; 6; 7; 8)</b>	80 ul
---	-------

<b>Reagent A</b>	1000 ul
------------------	---------

Homogenize and incubate for 5 minutes at 37°C. Read each Calibrator's absorbance at 340 nm ( $OD_1$ ) adjusting the instrument to zero OD with distilled water.

Then add:

<b>Reagent B</b>	200 ul
------------------	--------

Homogenize. Incubate for 5 minutes at 37°C and immediately measure absorbance at 340 nm ( $OD_2$ ), adjusting the instrument to zero with distilled water.

Calculate the difference in absorbance ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) for each Calibrator. Plot the difference in absorbance ( $\Delta A$ ) in graph paper against CRP concentration in mg/l.

#### PROCEDURE FOR SAMPLES

In duly marked Kahn tubes, place:

<b>Sample</b>	80 ul
<b>Reagent A</b>	1000 ul
Homogenize and incubate for 5 minutes at 37°C. Measure absorbance at 340 nm (OD <sub>1</sub> ) adjusting the instrument to zero with distilled water. Then add:	
<b>Reagent B</b>	200 ul
Homogenize and incubate for exactly 5 minutes at 37°C and immediately read the absorbance at 340 nm (OD <sub>2</sub> ) taking the instrument to zero with distilled water.	

### Total precision

Level	S.D.	C.V.
11.9 mg/l	± 0.72 mg/l	6.0 %
40.6 mg/l	± 1.30 mg/l	3.2 %

**b) Detection limit:** is the minimum analyte amount capable of being detected as a sample, different than zero, and corresponds to the concentration of 0.5 mg/l CRP.

**c) Assay range:** corresponds to the exactly quantifiable interval of values and ranges from 2 mg/l to the last calibration point (200 mg/l CRP approximately).

**d) Prozone effect:** not noted until 1000 mg/l CRP.

The performance results were obtained using Konelab 60i autoanalyzer. Therefore, such values may differ whenever another autoanalyzer or manual technique is used.

### PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

Refer to the specific applications of each autoanalyzer.

### WIENER LAB. PROVIDES

60 ml: 1 x 50 ml Reagent A  
1 x 10 ml Reagent B  
(Cat. N° 1683267)

84 ml: 2 x 35 ml Reagent A  
2 x 7 ml Reagent B  
(Cat. N° 1008125)\*

### REFERENCES

- Ledue, T. et al - Clin Chem 49/8:1258 (2003).
- Otsuji, S. - Clin. Chem. 28/10:2121 (1982).
- Dati, F. - J. of IFCC VIII/1:29 (1996).
- Dati, F. - Clin. Chem. Lab. Med. 39/11:1134 (2001).
- WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2 (2002).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5<sup>o</sup> Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5<sup>th</sup> ed., 2000.
- EP5-A (Vol.19 - N°2) Evaluation of precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline - NCCLS.
- EP17-A (Vol.24 - N°34) Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline - NCCLS.

### CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) corresponding to each sample assayed. Interpolate this  $\Delta A$  into the calibration curve to determine the CRP concentration (mg/l) of the sample under study.

The samples with absorbances that are higher than the last calibration point should be diluted (1:2 or 1:4) with saline solution and processed one more time. Multiply the obtained result by the dilution performed.

### QUALITY CONTROL METHOD

Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA.

Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA.

The Controls should be processed in the same manner as the samples.

### REFERENCE VALUES

0-5 mg/l

Each laboratory should set its own reference values. Two or more periodic determinations should be performed to monitor the development of the disease.

### PROCEDURE LIMITATIONS

- See Known interfering substances under SAMPLE.
- It is recommended to perform a complete recalibration when changing Reagent lot or when suggested by Quality Control.
- During inflammation processes the CRP may reach levels 1000 times higher than the normal level. If severe inflammation processes are suspected or elevated results are obtained it is recommended to dilute the samples 1:5 or 1:10.
- Avoid contamination to preserve integrity of the reagents. Only use thoroughly clean and dry micropipettes for measurements.

### PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** evaluated by a modification of protocol EP5-A from CLSI. Thus, two samples with different CRP levels were tested. The intra-assay and total precision were calculated with the obtained data.

#### Intra-assay precision

Level	S.D.	C.V.
11.9 mg/l	± 0.28 mg/l	2.4 %
40.6 mg/l	± 0.49 mg/l	1.2 %



Nr kat. 1683267  
Nr kat. 1008125

## Metoda immunoturbidymetryczna do ilościowego oznaczania białka C-reaktywnego (CRP)

### WSTĘP

Białko C reaktywne (C Reactive Protein CRP) jest jednym z najbardziej czułych czynników ostrej fazy reakcji, który jest syntetyzowany w wątrobie.

Poziomy wzrastają przy odpowiedzi na ostre i przewlekłe infekcje lub stany zapalne a także w przypadku uszkodzenia tkanek. Oznaczenie CRP jest użyteczne nie tylko dla diagnostyki ale również jako monitoring leczenia stanów zapalnych. Wzrost poziomu i długość trwania podniesionego poziomu ma ścisły związek z chorobami zapalnymi.

### ZASADA DZIAŁANIA

CRP reaguje ze specyficznym przeciwciałem tworząc nierozpuszczalne kompleksy immunologiczne. Zmętnienie, które powstaje w wyniku obecności kompleksów jest wprost proporcjonalne do stężenia CRP w próbce i może być mierzone spektrofotometrycznie.

### DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** buforowany roztwór soli fizjologicznej, pH 7,6.

**B. Odczynnik B:** monospecyficzne przeciwciała przeciw CRP.

### NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Roztwór soli fizjologicznej.
- PCR Calibrador en serie Turbitest AA Wiener lab.

### INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

### OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro". Każdy materiał badany pobrany od pacjenta powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych. Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

### TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

**Dostarczane odczynniki:** trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

### MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi

- Pobranie:** pobrać w klasyczny sposób.
- Substancje dodatkowe:** nie wymagane.

**c) Znane interakcje:** nie używać próbek zanieczyszczonych, z hemolizą i lipemią. Strącone próbki powinny zostać odwirowane.

Nie obserwowano żadnych interakcji do poziomu bilirubiny 22 mg/dl (220 mg/l), z czynnikiem reumatoidalnym RF do 500 IU/ml.

Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

**d) Trwałość i instrukcja przechowywania:** próbka powinna być świeża. Jeżeli nie można badania wykonać natychmiast, materiał można przechowywać przez 2 miesiące w lodówce (2-10°C) lub do 3 lat zamrożony (-20°C). Unikać powtórnych zamrażania i rozmrażania.

### WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.
- Kwadratowe kuwety spektrofotometryczne.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości.
- Probówki Kahna lub do hemolizy.
- Łażnia wodna o temp. 37°C.
- Stoper.

### WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm
  - Temperatura reakcji: 37°C
  - Czas reakcji: 10 minut
  - Objętość materiału badanego: 80 ul
  - Objętość reakcji końcowej: 1,28 ml
- Objętości materiału badanego i odczynników mogą być zmieniane proporcjonalnie bez zmiany współczynników do obliczeń.

### PROCEDURA

#### KRZYWA KALIBRACJI

W oznaczonych właściwie probówkach Kahna umieścić:

<b>PCR Calibrador en serie (1; 3; 5; 6; 7; 8)</b>	80 ul
<b>Odczynnik A</b>	1000 ul

Homogenizować i inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać absorbancję dla każdego Kalibratora przy 340 nm (OD<sub>2</sub>) ustawiając aparat na zero OD na wodzie destylowanej. Następnie dodać:

<b>Odczynnik B</b>	200 ul
--------------------	--------

Homogenizować. Inkubować przez 5 minut w temp. 37°C i natychmiast odczytać absorbancję przy 340 nm (OD<sub>2</sub>).

ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Obliczyć różnicę absorbancji ( $\Delta A = OD_2 - OD_1$ ) dla każdego Kalibratora. Narysować zmianę w absorbancji ( $\Delta A$ ) w stosunku do stężenia CRP w mg/l na papierze milimetrowym.

#### PROCEDURA DLA MATERIAŁU BADANEGO

W oznaczonych właściwie probówkach Kahna umieścić:

**Materiał badany** 80 ul

**Odczynnik A** 1000 ul

Homogenizować i inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać absorbancję przy 340 nm (OD<sub>1</sub>) ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać:

**Odczynnik B** 200 ul

Homogenizować i inkubować dokładnie przez 5 minut w temp. 37°C i natychmiast odczytać absorbancję przy 340 nm (OD<sub>2</sub>) ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej.

#### OBLICZENIA

Obliczyć różnicę absorbancji ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) dla każdej badanej próbki. Odnieść  $\Delta A$  do krzywej kalibracji i oznaczyć stężenie CRP (mg/l) dla badanej próbki.

Materiał badany o absorbancji wyższej niż ostatni punkt kalibracji należy rozcieńczyć (1:2 lub 1:4) solą fizjologiczną i powtórzyć badanie. Pomnożyć otrzymane wyniki przez współczynnik wykonanego rozcieńczenia.

#### METODA KONTROLI JAKOŚCI

**Control Inmunológico nivel 1 Turbitest AA** Wiener lab.

**Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** Wiener lab.

Próby kontrolne należy poddać tej samej procedurze jak materiał badany.

#### WARTOŚCI REFERENCYJNE

0-5 mg/l

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych. W celu monitoringu rozwoju choroby należy wykonać dwa lub więcej okresowych oznaczeń.

#### OGRANICZENIA PROCEDURY

- Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY.

- Zaleca się wykonanie pełnej kalibracji przy zmianie serii Odczynnika oraz przy zaleceniach z działu kontroli jakości.

- W trakcie procesu zapalnego CRP może osiągać poziomy 1000 razy wyższe niż poziom prawidłowy. Jeżeli podejrzewa się proces zapalny o ciężkim przebiegu lub bardzo podwyższone wyniki należy rozcieńczyć próbkę 1:5 lub 1:10.

- Unikać zanieczyszczenia celem zachowania czystości odczynników. Do pomiarów stosować wyłącznie zupełnie czyste i suche mikropipety.

#### CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** oceniono zgodnie z protokołem EP5-A

CLSI. Oceniano różnie poziomy na dwóch próbkach materiału badanego. Otrzymano następujące wyniki precyzji w trakcie badania i precyzji całkowitej.

#### Precyzja w trakcie badania

Poziom	S.D.	C.V.
11,9 mg/l	± 0,28 mg/l	2,4 %
40,6 mg/l	± 0,49 mg/l	1,2 %

#### Precyzja całkowita

Poziom	S.D.	C.V.
11,9 mg/l	± 0,72 mg/l	6,0 %
40,6 mg/l	± 1,30 mg/l	3,2 %

**b) Granica wykrywalności:** najmniejsza wykrywalna ilość CRP w próbce różna od zera to stężenie równe 0,5 mg/l.

**c) Zakres analizy:** zawiera się w dokładnie mierzalnym ilościowo przedziale i zakresie od 2 mg/l do ostatniego punktu kalibracji (około 200 mg/l CRP).

**d) Efekt prozona:** nie obserwowany do poziomu 1000 mg/l CRP.

Wydajność została określona w badaniu przeprowadzonym przy użyciu automatycznego Konelab 60i. Wartości mogą się różnić dla innych analizatorów automatycznych i metody manualnej.

#### PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się ze specyfikacją danego analizatora automatycznego.

#### WIENER LAB. DOSTARCZA

60 ml: 1 x 50 ml Odczynnik A

1 x 10 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1683267)

84 ml: 2 x 35 ml Odczynnik A

2 x 7 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1008125)

#### ŹRÓDŁA

- Ledue, T. et al - Clin Chem 49/8:1258 (2003).

- Otsuji, S. - Clin. Chem. 28/10:2121 (1982).

- Dati, F. - J. of IFCC VIII/1:29 (1996).

- Dati, F. - Clin. Chem. Lab. Med. 39/11:1134 (2001).

- WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2 (2002).

- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5<sup>th</sup> Edition) WB Saunders, 2001.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5<sup>th</sup> ed., 2000.














- EP5-A (Vol.19 - N°2) Evaluation of precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline - NCCLS.


- EP17-A (Vol.24 - N°34) Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline - NCCLS.



# SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

-  Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"
-  Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
-  Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"
-  Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań
-  Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed
-  Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur
-  No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać
-  Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne
-  Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu
-  Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość
-  Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii
-  Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca
-  Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa
-  Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrąca
-  Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca
-  Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją
-  Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator
-  Control// Controle// Control// Próba kontrolna
-  Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia
-  Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna
-  Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-18



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina