

Order information:

Catalog No.	Contents						
7481	R1	3 x	20 ml	R2	1 x	10 ml	
H5301	Hit I (ILab*)	R1	6 x	19 ml	R2	1 x	16 ml
H5303	Hit 917 (AU*)	R1	6 x	60 ml	R2	6 x	9 ml
AU5303	AU	R1	6 x	60 ml	R2	6 x	9 ml

(*) Kit contains only reagent barcodes for Hitachi system.

System information:

Hitachi 911: ACN 066

Hitachi 917: ACN 109

For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of CRP in human serum and plasma.

Summary:

C-reactive protein is the classic acute phase protein to inflammatory reactions. It is synthesized by the liver and consists of five identical polypeptide chains forming a five-membered ring of molar mass 120 000 daltons. CRP is the most sensitive of the acute phase reactants, and its concentration increases rapidly during inflammatory processes. Complexed CRP activates the complement system beginning with C1q. CRP then initiates opsonization and phagocytosis of invading cells, but its main function is to bind and detoxify endogenous toxic substances produced as a result of tissue damage.

CRP assays are used to detect systematic inflammatory processes (apart from certain types of inflammation such as SLE and colitis ulcerosa); to assess treatment of bacterial infections with antibiotics; to detect intrauterine infections with concomitant premature amniorrhexis; to differentiate between active and inactive forms of disease with concurrent infection, e.g. in patients suffering from SLE or Colitis ulcerosa; to therapeutically monitor rheumatic diseases and assess anti-inflammatory therapy; to determine the presence of postoperative complications at an early stage, such as infected wounds, thrombosis and pneumonia; and to distinguish between infection and bone marrow transplant rejection.

A variety of methods, such as nephelometry and turbidimetry are available for the determination of CRP. This CRP assay is based on the principle of immunological agglutination.

Test principle:

Immunoturbidimetric assay

Anti-CRP antibodies react with antigen in the sample to form an antigen/antibody complex. Following agglutination, this is measured turbidimetrically. Addition of PEG allows the reaction to progress rapidly to the end point, increases sensitivity, and reduces the risk of samples containing excess antigen producing false negative results.

Reagent concentration:

R1:

TRIS/HCl buffer pH 7.5 100 mmol/l

Polyethylene glycol ether 1-5%

Preservative

R2:

Anti-human anti-CRP antibody (goat) dependent on titer

TRIS/HCl buffer* pH 7.6 50 mmol/l

NaCl 300 mmol/l

Preservative

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

Preparation and stability:

R1: Ready for use.

R2: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to + 8°C

Onboard stability: R1: 90 days

R2: 90 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes. Li-heparin or EDTA-Plasma

Stability: 3 days at +20°C to +25°C

8 days at + 4°C to + 8°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to a bilirubin concentration of 50 mg/dl.

Hemolysis: No significant interference up to a haemoglobin concentration of 400 mg/dl.

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to a triglyceride concentration of 1500 mg/dl.

There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Rheumatoid factors up to 1200 IU/ml do not interfere.

A high-dose hook-effect may occur at CRP concentrations >50 mg/dl.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases.

In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

• 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength: 340 nm / Hg 334 nm
 Temperature: +37°C
 Cuvette: 1 cm
 Zero adjustment: against reagent blank

	Blank	Sample/Calibrator
Sample/Calibrator	---	40 µl
0.9% NaCl	40 µl	---
R1:	700 µl	700 µl

Mix, incubate 5 min. at +37°C, read absorbance A₁. Then add:

R2: 100 µl 100 µl

Mix, incubate 5 min. at +37°C. Then read absorbance A₂

Calculation:

$$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$$

The concentration of CRP in patient sera has to be calculated from ΔA using mathematic function as logit/log or can be read from a graph using values of 6 levels of standards in the concentration range of 0 to 250 mg/dl CRP. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%)

Measuring /reportable range:

0.3 - 25 mg/dl (3 - 250 mg/l)

Determine samples having higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with 0.9% NaCl solution or distilled/deionized water (e.g. 1 + 2). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 3).

Expected values:

Reference values according to CRM 470 Protein -Standardized
 < 0.5 mg/dl (<5.0 mg/L)

Elevated CRP range:

Concentrations below 1 mg/dl (10 mg/l) rule out numerous acute inflammatory diseases, but cannot be taken to exclude acute inflammatory processes in general. Elevated concentrations up to 5 mg/dl (50 mg/l) in acute illnesses occur in the presence of slight to moderate inflammatory processes. Values 5 above 5 mg/dl (50 mg/l) indicate high and extensive inflammatory activity.

It is important to monitor the CRP concentration during the acute phase of the illness.

The ranges indicated are intended merely for orientation purposes. They can only be interpreted in conjunction with the clinical findings.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the CRP results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 0.3mg/dl (3 mg/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable CRP- concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as three standard deviations of 21 replicates of the lowest standard.

Imprecision:

Reproducibility within run was determined using controls in an internal protocol (n = 20). The following results were obtained:

Within run			
Sample	Mean mg/l	SD mg/l	CV %
sample 1	18.65	0.47	2.55
sample 2	30.31	0.49	1.61
sample 3	102.07	0.96	0.94

Between day			
Sample	Mean mg/l	SD mg/l	CV %
sample 1	18.74	0.31	1.63
sample 2	33.02	0.65	1.98
sample 3	107.92	1.70	1.57

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex CRP (y) with a commercial obtainable assay (x) with 102 samples gave the following result:

$$y = 1.09x - 1.09; \quad r = 0.997$$

Quality control:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662
Contronorm® ARC	2 x 1 ml	#7562
Controptath® ARC	2 x 1 ml	#7561

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: The CRP method was standardized against CRM 470.

S1:	0.9% NaCl	
S2-S6:	Bio Cal® CRP Set	5 x 1 ml #14530
S2-S6:	CRP Standard	1 x 1 ml #8120

Factors for calculating the concentrations using the lot-assigned value of the CRP standard:

$$S2: 0.05; \quad S3: 0.10; \quad S4: 0.20; \quad S5: 1.00; \quad S6: 2.50$$

Calibration frequency:

Full calibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
2. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995: 1159-62
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preatalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
4. Heidelberger M, Kendall FE. J. Exp Med 1935;62:697
5. Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Vol II. Philadelphia Pa.: WB Saunders Co. 1979.
6. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
7. Lizana J, Hellsing K. Clin Chem 1974;20:1181
8. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
9. Thomas L (Hrsg.) Labor und Diagnose, 4th ed Marburg: Die medizinische Verlagsgesellschaft 1992:781
10. Thomas L, Messenger M. Pathobiochemie und Labordiagnostik der Entzündung. Lab med 1993;17:179-194
11. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd. Philadelphia Pa.: WB Saunders, 1995: 164-165
12. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
13. Young B, Gleeson M, Cripps AW. C-reactive protein: A critical review. Pathology 1991;23: 118-124

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
7481	R1 3 x 20 ml R2 1 x 10 ml
H5301 Hit I (ILab*)	R1 6 x 19 ml R2 1 x 16 ml
H5303 Hit 917 (AU*)	R1 6 x 60 ml R2 6 x 9 ml
AU5303 AU	R1 6 x 60 ml R2 6 x 9 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

System information:

Hitachi 911: ACN 066
Hitachi 917: ACN 109

Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von CRP in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

C-reaktives Protein ist das klassische Akute-Phase-Protein auf eine entzündliche Reaktion. Es wird in der Leber synthetisiert und besteht aus fünf identischen Polypeptidketten in Form eines fünfgliedrigen Ringes mit einer Molmasse von 120000 Dalton. CRP ist der empfindlichste Reaktant der akuten Phase und seine Konzentration steigt in Gegenwart inflammatorischer Prozesse sehr schnell an. Komplextiertes CRP aktiviert den Weg des Komplement-Systems, beginnend bei C1q. CRP initiiert die Opsonierung und Phagozytose eingedrungener Zellen, seine Hauptaufgabe liegt jedoch in der Bindung und Detoxikation von toxischem körpereigenen Material aus Gewebeschädigungen.

Die Bestimmung von CRP dient zur Erkennung systematischer Entzündungsgeschehen (Ausnahmen sind gewisse Entzündungen wie SLE und Colitis ulcerosa), zur Beurteilung des Erfolgs einer Antibiotikatherapie bakterieller Infektionen, zur Erkennung intrauteriner Infektionen bei vorzeitigem Blasensprung, zur Differenzierung zwischen aktiver Erkrankungsform und inaktiver Form mit zusätzlicher Infektion, z.B. bei Patienten mit SLE und Colitis ulcerosa, zur Einschätzung der Krankheitsaktivität rheumatischer Krankheiten und Beurteilung einer antiinflammatorischen Therapie zur Früherkennung postoperativer Komplikationen (Wundinfektion, Thrombose) und zu Abgrenzung bei Infektion von einer Abstoßreaktion bei Knochenmarktransplantierten.

Zur CRP-Bestimmung stehen verschiedene Methoden wie die Nephelometrie und die Turbidimetrie zur Verfügung. Der vorliegende CRP-Test beruht auf dem Prinzip des immunologischen Agglutinationstests.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest

CRP-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird. Der Zusatz von PEG ermöglicht einen schnellen Endpunkt, erhöht die Empfindlichkeit und vermindert das Risiko, bei Proben mit Antigenüberschuss falsch negative Werte zu messen.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:
TRIS* /HCl Puffer pH 7,5 100 mmol/l
Polyethylenglykol-Ether 1-5 %
Konservierungsmittel

R2:
Anti-Human CRP-Antikörper (Ziege) abhängig vom Titer
TRIS*/HCl Puffer pH 7,6 50 mmol/l
NaCl 300 mmol/l
Konservierungsmittel

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig
Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.

Onboard Stabilität: R1 90 Tage
R2 90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
Li-Heparinat- oder EDTA-Plasma
Haltbarkeit: 3 Tage bei +20°C bis +25°C
8 Tage bei + 4°C bis + 8°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkung des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Bilirubin-Konzentration von 50mg/dl.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 400 mg/dl.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Triglycerid-Konzentration von 1500 mg/dl. Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Rheumafaktoren < 1200 IU/ml stören nicht.

Bei CRP- Konzentrationen über 50 mg/dl kann der High-Dose-Hook-Effekt auftreten.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben
- NaCl-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge: 340 nm/ Hg 334 nm
Reaktionstemperatur: +37°C
Schichtdicke: 1 cm
Messung: gegen Reagenzienleerwert (RLW)

	RLW	Probe/ Kalibrator
Probe/Kalibrator:	---	40 µl
NaCl-Lösung (0,9%):	40 µl	---
R1:	700 µl	700 µl

Mischen. 5 Minuten bei +37°C inkubieren, Extinktion E₁ ablesen. Dann zugeben:

R2:	100 µl	100 µl
-----	--------	--------

Mischen, 5 Minuten bei +37°C inkubieren und Extinktion E₂ ablesen.

Berechnung:

$$\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ RLW}]$$

Die Konzentration von CRP in Patientenseren sollte aus dem ΔE der Probe mit Hilfe eines mathematischen Modells wie logit/log berechnet oder aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 6 Standards für einen Kalibrationsbereich von 0 bis 250 mg/dl CRP. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.

Messbereich:

0,3 - 25 mg/dl bzw. 3 - 250 mg/l (abhängig vom Kalibrator-Sollwert).

Bei höheren Konzentrationen werden die Proben manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt (z.B. 1 + 2) und das Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor (z.B. 3) multipliziert oder mit Rerun-Funktion bestimmt.

Referenzbereich:

Referenzwerte gemäß CRM 470 Protein-Standardisierung
< 0.5 mg/dl (<5.0 mg/L)

Erhöhter CRP-Bereich

Konzentrationen < 1 mg/dl bzw. < 10 mg/l schließen viele akut-entzündliche Erkrankungen aus, sprechen aber nicht generell gegen einen Entzündungsprozess.

Erhöhte Konzentrationen < 5 mg/dl bzw. < 50 mg/l bei akuten Krankheitsgeschehen treten bei leicht bis mäßig entzündlichen Prozessen auf.

Werte > 5 mg/dl bzw. > 50 mg/l bei akuten Krankheitsverläufen sprechen für eine hohe und ausgedehnte Entzündungsaktivität.

Wichtig ist die Verlaufskontrolle der CRP- Konzentration während des akuten Krankheitsgeschehens.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die CRP-

Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 0.3 mg/dl bzw. 3 mg/l.

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren CRP- Konzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie wird aus drei Standardabweichungen von 21 Proben des niedrigsten Standards berechnet.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit in der Serie wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/l	SD mg/l	VK %
Probe 1	18,65	0,47	2,55
Probe 2	30,31	0,49	1,61
Probe 3	102,07	0,96	0,94

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/l	SD mg/l	VK %
Probe 1	18,74	0,31	1,63
Probe 2	33,02	0,65	1,98
Probe 3	107,92	1,70	1,57

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex CRP (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 100 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,09 x - 1,09;$$

$$r = 0,997$$

Qualitätskontrolle:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662
Contronorm® ARC	2 x 1 ml	#7562
Contropath® ARC	2 x 1 ml	#7561

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung: Die CRP-Methode wurde an der Referenzpräparation CRM 470 abgeglichen.

S1: 0.9% NaCl

S2-S6: Bio Cal® CRP Set 5 x 1 ml #14530

S2-S6: CRP Standard 1 x 1 ml #8120

Faktoren für die Berechnung der Standardkonzentrationen aus dem Sollwert des CRP Standards:

S2: 0.05; S3: 0.10; S4: 0.20; S5: 1.00; S6: 2.50

Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen

- bei Reagenzchargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790
2. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:1159-62
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
4. Heidelberger M, Kendall FE. J. Exp Med 1935;62:697
5. Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Vol II. Philadelphia Pa.: WB Saunders Co. 1979.
6. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
7. Lizana J, Hellsing K. Clin Chem 1974;20:1181
8. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
9. Thomas L (Hrsg.) Labor und Diagnose, 4. Auflage ed Marburg: Die medizinische Verlagsgesellschaft 1992:781
10. Thomas L, Messenger M. Pathobiochemie und Labordiagnostik der Entzündung. Lab Med 1993;17:179-194
11. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia Pa.: WB Saunders, 1995: 164-165
12. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
13. Young B, Gleeson M, Cripps AW. C-reactive protein: A critical review. Pathology 1991;23: 118-124

