

**ПРИНЦИП МЕТОДА**

С-реактивный белок сыворотки вызывает агглютинацию частиц латекса покрытых антителами к человеческому С-реактивному белку. Агглютинация латексных частиц пропорциональна концентрации СРБ и может быть измерена турбидиметрически<sup>1</sup>.

**СОСТАВ**

- А. Реагент: 1 x 40 мл. Глициновый буфер 0,1 моль/л, азид натрия 0,95 г/л, рН 8,6.  
В. Реагент: 1 x 10 мл. Суспензия латексных частиц, покрытых антителами против человеческого СРБ, азид натрия 0,95 г/л.

**ХРАНЕНИЕ**

Хранить при 2-8°C.

Реагенты стабильны в течение всего означенного срока годности при хранении плотно закрытыми и предотвращении загрязнения во время использования.

Показатели ухудшения свойств набора:

- Реагентов: абсорбция рабочего реагента выше 1.600 при 540 нм

**ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАКТИВЫ**

С. Стандарт СРБ-hs. Для 1 x 5 мл. (BioSystems код 31113). Человеческая сыворотка. Концентрация С-реактивного белка проставлена на этикетке флакона. Показатель концентрации соотносится с эталонным материалом стандарта ERM-DA472/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM).

*Компоненты человеческого происхождения проверены на отсутствие антител к анти – HIV и анти – HCV, также, как и на Hbs – антиген. Однако, следует проявлять осторожность при работе с данной сывороткой, как потенциальным источником инфекций.*

Развести в 5 мл дистиллированной воды. Стабильность раствора составляет 1 месяц при 2-8°C.

Калибровочная кривая: приготовьте разведения СРБ-hs стандарта, используя 9 г/л солевой раствор (физиологический) в качестве дилуэнта. Умножьте концентрацию СРБ-hs стандарта на соответствующий фактор, указанный ниже, для получения СРБ-hs концентрации в разведениях (примечание 2).

РАЗВЕДЕНИЕ	1	2	3	4	5
СРБ-hs стандарт (мкл)	30	60	120	180	240
Физ. раствор	210	180	120	60	–
Фактор	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА**

Рабочий Реагент: Вылить содержимое флакона В во флакон с А (примечание 1). Тщательно перемешать. Стабильность раствора составляет 20 дней при 2-8°C.

Небольшие объемы Рабочего Реагента могут быть приготовлены при смешивании: 1 мл реагента В + 4 мл реагента А. Встряхнуть флакон с реагентом В перед употреблением.

**НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ**

- Водяная термобаня на 37°C.  
– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой с температурой 37°C и с фильтром 540 ± 20 нм.

**ОБРАЗЦЫ**

Сыворотка собранная по стандартной процедуре. Стабильность СРБ-hs в сыворотке составляет 7 дней при 2-8°C.

**ПРОЦЕДУРА**

- Нагреть Рабочий Реагент и фотометр до 37°C.
- Выставить "ноль" фотометра по дистиллированной воде (примечание 3)
- Внести в кювету:

Рабочий Реагент	1,5 мл
Вода (бланк), Стандарт (S) или Образец	20 мкл

- Перемешать и немедленно поставить кювету в термостатируемую измерительную ячейку фотометра при 37°C. Начать отсчет времени
- Измерить абсорбцию при 540 нм через 10 секунд (A<sub>1</sub>) и через 5 минут (A<sub>2</sub>).

**КАЛИБРОВКА**

Калибровочная кривая: рассчитать разницу абсорбций (A<sub>2</sub> – A<sub>1</sub>) в каждой точке калибровочной кривой и отметить на графике напротив соответствующей концентрации СРБ-hs. Концентрация СРБ-hs образца рассчитывается путем интерполяции абсорбции (A<sub>2</sub> – A<sub>1</sub>) на калибровочную кривую.

Рекомендуется проводить калибровку не реже одного раза в 2 месяца, после замены набора реактивов и если того требует процесс контроля качества.

**НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ**

Сыворотка<sup>2,3</sup>:

Мужчины		Женщины	
5-13 лет	< 1,45 мг/л	5-18 лет	< 1,90 мг/л
14-18 лет	< 2,13 мг/л	19-49 лет	< 3,33 мг/л
19-39 лет	< 2,68 мг/л	50-64 лет	< 8,50 мг/л
40-49 лет	< 4,80 мг/л	65-99 лет	< 6,60 мг/л
50-64 лет	< 7,90 мг/л		
65-99 лет	< 6,80 мг/л		

Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Рекомендуется использовать Контрольную сыворотку для белков Уровень I (Код 31211) или Ревматоидную контрольную Сыворотку Уровень 1 (Код 31213) для установления правильности проведения процедуры.

Каждая лаборатория должна устанавливать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для корректировки своих действий в случае, если контроль не укладывается в приемлемый диапазон.

**МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

- Предел чувствительности: 0,06 мг/л.  
– Интервал измерения: 0,06 - 15 мг/л. Для больших значений разведите образец 1/5 дистиллированной водой и повторите измерение (примечание 4).

– Сходимость (внутри серии):

Среднее значение	CV	n
1,4 мг/л	1,8%	20
7,2 мг/л	1,5%	20

– Воспроизводимость (между сериями):

Среднее значение	CV	n
1,4 мг/л	3,6%	25
7,2 мг/л	3,0%	25

– Достоверность: результаты, полученные с применением данных реагентов, не показывают систематических различий при сравнении с референсными реагентами. Подробности проведенных экспериментов сравнения предоставляются по запросу.

– Эффект зоны: Этот метод не имеет эффекта зоны (<500 мг/л)

– Влияния: Гемоглобин (10 г/л) и липемия (триглицериды 10 г/л) не влияют на исследование. Билирубин (>10 мг/дл) и ревматоидные факторы (>75 IU/мл) могут оказывать влияние. Другие вещества и лекарственные препараты также могут влиять на исследование<sup>4</sup>.

Эти метрологические характеристики были получены с использованием анализатора. Результаты могут различаться в зависимости от использования различных инструментов или ручной методики.

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

С-реактивный белок (СРБ), который синтезируется в печени, является одним из наиболее чувствительных белков острой фазы при поражении тканей или воспалении. СРБ активирует классический путь комплемента, как ответ на воспалительную реакцию.

Уровни СРБ в сыворотке крови могут резко возрастать после инфаркта миокарда, стрессорной реакции, травмы, инфекций, воспалений, хирургических вмешательств и процессов неопластической пролиферации. Повышение уровня СРБ происходит в интервале от 24 до 48 часов и уровень СРБ может до 2000 раз превышать норму. Повышение уровня СРБ теоретически может ожидать при всех заболеваниях, вовлекающих поражения тканей, даже рассматриваемых, как неспецифические<sup>5</sup>.

Традиционно используемый в мониторинге и определении основных воспалительных процессов, повышение уровня СРБ в пределах сравнимых с нормальными величин, было отмечено в ряде исследований. Эти исследования показали, что высокочувствительный СРБ (СРБ-hs) представляет интерес в прогнозировании риска для дальнейших кардиоваскулярных событий и периферических сосудистых заболеваний. Концентрации выше 10 мг/л обычно имеют значение для других происходящих воспалительных процессов<sup>6,7</sup>.

Клиническая диагностика не должна базироваться на результатах единичного теста, а должна являться совокупностью клинических и лабораторных данных.

**ПРИМЕЧАНИЯ**

- Осторожно встряхивать флаконы с Реагентом В перед добавлением их содержимого во флакон с Реагентом А. Целесообразно сполоснуть флакон из-под Реагента В малым объемом приготовленной смеси для того, чтобы полностью смыть реагент во избежание потерь.
- Калибровочная кривая является линейной до 10 мг/л на некоторых инструментах. В этом случае, калибровку можно представлять по одной точке (5 мг/л). Однако, для большей точности, если это необходимо, лучше представлять многоочечный метод калибровки.
- Данные реагенты могут быть использованы в различных автоматических анализаторах. Инструкции на многие из них предельно доступны по запросу.
- Пределы линейности зависят от соотношения образца и реагента. Линейность будет выше, если уменьшить количество пробы, но при этом пропорционально уменьшится чувствительность.

**БИБЛИОГРАФИЯ**

- Price CP, Trull AK, Berry D, Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. *J Immunol Methods* 1987; 99: 205-211.
- Chenilhot O, Henny J, Steinmetz J, Herbeth B, Wagner C, Siest G. High-sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 1003-11.
- Herbeth B, Siest G, Henny J. High-sensitivity C-reactive protein (CRP) reference intervals in the elderly. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 1169-70.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AAC Press, 2000.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AAC Press, 2001.
- Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000; 46: 461-8.
- Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem* 2001; 47: 418-25.