

4- نرمال سالی (محلول سدیم کلراید ۰/۹ درصد)

5- استیک یکبار مصرف پلاستیکی (چوب همزن)

نگهداری و پایداری:

- معرفها در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی ویالها پایدار می باشند. مشروط بر اینکه درب ویالها بسته و آلوده نگردند.
- یک روز در دمای اتاق ۱۵-۲۵ درجه سانتیگراد پایدار است.
- از یخ زدگی معرفها جداً پرهیز شود.

روش اندازه گیری کیفی دستی :

- 1- اجازه دهید معرف CRP Latex و کنترلها به دمای اتاق برسند.
- 2- به آرامی معرف CRP Latex و کنترلها را بهم بزید تا بصورت سوسپانسیون یکنواخت شوند.
- 3- ۱ قطره (۵۰ میکرولیتر) سرم نمونه مورد آزمایش در یکی از حلقه های اسلاید ، ۱ قطره (۵۰ میکرولیتر) کنترل مثبت (کنترل قرمز رنگ) و ۱ قطره (۵۰ میکرولیتر) کنترل منفی (کنترل آبی رنگ) را هر یک در یکی دیگر از حلقه های اسلاید قرار دهید.
- 4- ۱ قطره (۵۰ میکرولیتر) از معرف CRP Latex را به هریک از نمونه ها اضافه کنید.
- 5- محتوای هر دایره را با همزن یکبار مصرف مخلوط کنید در حالی که در کل منطقه محصور شده توسط حلقه پخش شود. برای هر مخلوط از همزن جداگانه استفاده کنید.
- 6- اسلاید را توسط روتاتور با دور 100 rpm یا با دست به مدت دو دقیقه بچرخانید.
- 7- بلافاصله زیر یک منبع نور مناسب برای هر درجه آگلوتیناسیون اسلاید را مشاهده کنید.

روش مشاهده و گزارش نتیجه آزمایش :

- آگلوتیناسیون درشت و بسیار واضح با پس زمینه شفاف +++ یا +۳ (Positive)
- آگلوتیناسیون متوسط و واضح با پس زمینه شفاف ++ یا +۲ (Positive)
- آگلوتیناسیون ریز و قابل رویت با پس زمینه شیری + یا +۱ (Positive)
- مثبت ضعیف یا Weakly Positive
- سپانسیون شیری و یکنواخت و عدم ایجاد آگلوتیناسیون منفی یا Negative



روش اندازه گیری نیمه کمی دستی بصورت لوله ای :

- در صورت مثبت شدن تست و به درخواست پزشک میتوانی روش لوله ای نیمه کمی را بصورت رقت سریالی سرم انجام دهید. برای انجام این روش بصورت زیر عمل نمایید.
- 1- پنج لوله را شماره گذاری کرده و در هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر نرمال سالیین (NaCl 9gr/L) یا glycine buffer یا PBS بریزید.
- 2- ۱۰۰ میکرولیتر سرم به لوله اول اضافه نموده با ۱۰۰ میکرولیتر بافر موجود در لوله مخلوط میکنیم.
- 3- ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط لوله اول را به ۱۰۰ میکرولیتر بافر موجود در لوله دوم اضافه کرده مخلوط می کنیم.
- 4- ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط لوله سوم را به ۱۰۰ میکرولیتر بافر موجود در لوله چهارم اضافه کرده مخلوط می کنیم و به همین ترتیب این عمل را برای لوله پنجم انجام میدهیم.
- 5- ۵۰ لانداز سرم رقیق شده لوله اول ، دوم ، سوم ، چهارم و لوله پنجم برداشته و مطابق با روش اندازه گیری کیفی آزمایش را ادامه دهید. رقت سرم در لوله ها مطابق با جدول زیر می باشد.
- (سرم رقیق شده + ۵۰ لانداز Ag Latex + مخلوط کرده ← ۲ دقیقه با روتاتور چرخانده ← از نظر آگلوتیناسیون بررسی می شود.)
- 6- هر رقتی از سرم که مثبت شد (بوجود آمدن ذرات آگلوتینه واضح) را در عدد ۶ ضرب میکنیم تا تیتراژ آنتی بادی بر اساس mg/L بدست آید. به این ترتیب تیتراژ آنتی بادی در لوله اول ۲۱ ، دوم ۲۴ ، سوم ۸۴ ، چهارم ۶۹ و پنجم 192 mg/L می باشد.
- 7- در صورت مثبت شدن رقت پنجم (۱/۳۲) به رقت سریالی مطابق با بند ۳ ادامه و بصورت بند ۵ انجام و بصورت بند ۶ محاسبه میکنیم.

(C – Reactive Protein Qualitative Determination)
(Based on Latex Agglutination Assay Kit)

REF: PA20001

CRP Latex Reagent 1 X 5 ml
CRP Positive Control Serum (Red Bottle) 1 X 1 ml
CRP Negative Control Serum (Blue Bottle) 1 X 1 ml
Six Cells Plate with black background 1

ISO: 13485:2016

مقدمه:

CRP مهمترین پروتئین شناخته شده در گروه پروتئین های فاز حاد (Acute Phase Protein) است که توسط کبد ساخته میشود. این پروتئین در غلظت پایین کمتر از 2 mg/L بصورت نرمال در سرم افراد سالم وجود دارد. غلظت CRP بصورت مشخص و معنی دار (حتی تا صد برابر مقدار نرمال) در التهاب های حاد شامل عفونت های باکتریال ، ویرال ، لوسمی ، روماتیسم حاد و التهاب های روده ای و معده ای و همچنین نکروز بافتی مانند مایوکاردیال اینفارکشن مقدار آن افزایش می یابد. غلظت CRP با سرعت افزایش یافته و بعد از بهبود به سرعت کاهش می یابد.

روش : CRP -Latex Immune Agglutination Slide Test

اصول آزمایش:

در این روش CRP موجود در نمونه بیمار با آنتی بادی حساس شده بر علیه CRP انسانی با منشاء حیوانی (بز) که بر روی ذرات لاتکس کوت شده است تشکیل کمپلکس داده و ایجاد آگلوتیناسیون می نماید. شدت آگلوتیناسیون ایجاد شده با مقدار CRP موجود در نمونه بیمار رابطه مستقیم ندارد که طبق مراحل زیر انجام میشود:

Patient Serum+Latex Coated with Anti-CRP IgG(goat origin) → ①
① → Complex of Antigen and Antibody

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
CRP Latex Reagent	Suspension of Polystyrene latex particles coated with specific goat IgG anti-human C-reactive protein in a buffered glycine-saline (pH 7.5±0.5) solution. Contains 0.95 g/L NaNa ₃	100 mmol/L
Positive Control (Red bottle)	Human serum with a CRP Concentration , contains 0.95 g/L NaNa ₃	15 mg/L
Negative Control (Blue bottle)	Animal serum with an at least a CRP Concentration , contains 0.95 g/L NaNa ₃	1 mg/L

نمونه مورد آزمایش:

سرم تازه بدون همولیز و غیر لیپمیک. پایداری CRP در نمونه و در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد یک هفته میباشد و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای مدت ۳ ماه می باشد. از بکار بردن پلاسما ، سرم دارای همولیز و سرم لیپمیک خوداری شود.

آماده سازی محصول:

معرفها CRP Latex و کنترل مثبت و منفی آماده مصرف می باشند.

مواد و وسایل مورد نیاز:

1- سمپلر دقیق و کالیبره شده

2- روتاتور قابل تنظیم با قابلیت 100 rpm

کنترل کیفی:

در هر بار آزمایش نمونه های بیماران ، حتما کنترل مثبت و کنترل منفی موجود در کیت را نیز همزمان مورد آزمون قرار دهید .

خصوصیات علمی کیت:

1- محدوده اندازه گیری:

ماکزیم حد سنجش: 160.0 mg/l

حساسیت: 6.0 mg/l (5-10 mg/dL)

۲- اختصاصیت تشخیصی :

۹۶/۲ درصد

۳- حساسیت تشخیصی:

۹۵/۶ درصد

موارد مثبت کاذب (False Positive) :

- مصرف قرص های ضدبارداری (OCP) ممکن است سطح CRP را افزایش دهد.
- استفاده از نیاسین ، استاتین، استروژن، پروژسترون و بکار گیری IUD بدلیل ایجاد التهاب بافتی .
- آلودگی میکروبی معرف لاتکس و کنترلها و یخ زدگی و آب شدگی مجدد معرف لاتکس و کنترلها.
- وجود آلودگی در اسلایدهای شسته شده به مواد شوینده .
- بالا بودن مقدار فاکتور روماتوئید در سرم .

موارد منفی کاذب (False Negative) :

- بالا بودن میزان غلظت CRP در سرم و ایجاد پدیده پروزون . (در این حالت از ۱۰ میکرولیتر سرم به جای ۵۰ میکرولیتر سرم استفاده نمایید یا تست را بصورت رقت سازی لوله ای نیمه کمی انجام دهید .)
- خراب شدن آنتی ژن لاتکس.

شماره لوله	۱	۲	۳	۴	۵
رقت	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
نمونه (میکرولیتر)	100				
نرمال ساین (NaCl 0.9%) (میکرولیتر)	100	100	100	100	100
انتقال از یک لوله به لوله دیگر (میکرولیتر)	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	
مقدار CRP (mg/L) در نمونه رقیق نشده	12	24	48	96	192

مقادیر طبیعی:

مردان : Men	کمتر از ۷ میلی گرم در لیتر < 7 mg/L
زنان : Women	کمتر از ۷ میلی گرم در لیتر < 7 mg/L

* توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی مربوط به محدوده جمعیتی خود را تعیین کند.*

پدیده منطقه ای (Prozone effect) :

در این آزمایش تا غلظت 250 میلی گرم در لیتر پدیده منطقه ای مشاهده نشده است .

احتیاط در هنگام کار :

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد و از وسایل حفاظت فردی استفاده شود.

دفع پسماند :

براساس دستورالعمل های وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی عمل شود .

تداخلات :

بیلی روبین تا 20 mg/dl ، هموگلوبین تا 1000 mg/dl ، تری گلیسرید تا 1000 mg/dl و Rheumatoid Factors (RF) تا 100 IU/L تاثیر بر نتیجه آزمایش ندارند.

REFERENCES:

- . Lars-Olof Hanson et al. Current Opinion in Infectious diseases 1997; 10: 196-201 .
- . M.M. Pepys. The Lancet 1981; March 21: 653 – 656 .
- . Chetana Vaishnavi. Immunology and Infectious Diseases 1996; 6: 139 – 144 .
- . Yoshitsugy Hokama et al. Journal of Clinical Laboratory Status 1987; 1: 15 – 27 .
- . Yamamoto S et al. Veterinary Immunology and Immunopathology 1993; 36: 257 – 264 .
- . Charles Wadsworth et al. Clinica Chimica Acta; 1984: 138: 309 – 318 .
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. .
- . AACC Press, 1995