



ichroma™ CRP

POUŽITÍ

ichroma™ CRP test je fluorescenční imunoanalytický test (FIA) pro kvantitativní stanovení CRP v lidské plné krvi/séru/plazmě. Je užitečný jako pomůcka při léčbě a monitorování autoimunitních onemocnění a infekčních procesů, jako je revmatoidní artritida.

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

ÚVOD

C-reaktivní protein (CRP) je bílkovina, která se nachází v krvi a její hladina se zvyšuje v reakci na zánět. CRP je první popsaný protein akutní fáze a je mimořádně citlivým systémovým markerem zánětu a poškození tkání. Hladina CRP v séru se může zvýšit z normální hodnoty < 5 mg/l až na 500 mg/l během celkové nespecifické odpovědi organismu na infekce a jiné akutní zánětlivé stavy. Měření koncentrace CRP se široce používá jako klinický nástroj pro sledování stavu zánětu, účinnosti léčby různých infekcí a autoimunitních onemocnění, jako je revmatoidní artritida. Bylo navrženo, že vysoce citlivý CRP (hsCRP) může být spolu se sérovým cholesterolem markerem diagnostiky kardiovaskulárních onemocnění (KVO). hsCRP se ukazuje jako nejsilnější a nejméně závislý prediktivní rizikový faktor pro KVO.

PRINCIP

Test využívá metodu sendvičové imunodetekce.

Detekční protilátky v pufru se vážou na antigeny ve vzorku, vytvářejí komplexy antigen-protilátka a migrují na nitrocelulózovou matici, kde jsou zachyceny dalšími imobilizovanými protilátkami na testovacím proužku.

Více antigenů ve vzorku vytvoří více komplexů antigen-protilátka, což vede k silnějšímu fluorescenčnímu signálu detekčních protilátek, který je zpracován přístrojem pro testy ichroma™ a ukazuje koncentraci CRP ve vzorku.

KOMPONENTY

ichroma™ CRP test obsahuje "kazety" a "detekční pufrů".

- Kazeta obsahuje membránu ve formě testovacího proužku, který má na testovací linii antihumánní CRP protilátku, na antigenní linii lidský C-reaktivní protein a na kontrolní linii streptavidin. Všechny kazety jsou jednotlivě zataveny v sáčku z hliníkové fólie obsahujícím vysoušedlo a dále jsou baleny v krabičce na kazety.
- Detekční pufr obsahuje fluorescenční konjugát proti lidskému CRP, antihumánní CRP, fluorescenční konjugát BSA-biotinu i, hovězí sérový albumin (BSA) jako stabilizátor a azid sodný jako konzervační látku ve fosfátovém pufru (PBS). Přípravek je předdávkován ve zkumavce. Zkumavky s detekčním pufrům jsou zabaleny v krabici pro detekční pufr a dále zabaleny do polystyrenové krabice s chladicími polštářky pro přepravu.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Dodržujte pokyny a postupy popsané v tomto "Návodu k použití".
- Používejte pouze čerstvé vzorky a vyhněte se přímému slunečnímu záření.
- Číslo šarží všech testovacích komponent (kazety, detekčního pufru a ID čipu) se musí vzájemně shodovat.
- Nezaměňujte testovací součásti mezi různými šaržemi ani nepoužívejte testovací součásti po uplynutí doby použitelnosti, protože by to mohlo vést k nesprávným výsledkům testu.
- Nepoužívejte opakovaně kazety ani detekční pufrů. Kazeta by měla být použita pouze pro testování jednoho vzorku. Zkumavka s detekčním pufrům by měla být použita pouze pro zpracování jednoho vzorku.
- Kazeta by měla zůstat uzavřená v původním obalu až do doby těsně před použitím. Nepoužívejte kazetu, pokud je obal poškozen nebo již byl otevřen.
- Zmrazený vzorek by se měl rozmrazit pouze jednou. Pro přepravu musí být vzorky zabaleny v souladu s místními předpisy. Vzorek se silnou hemolýzou a/nebo hyperlipémií se nesmí použít.
- Pokud jsou testovací komponenty a/nebo vzorek uloženy v chladničce, nechte kazetu, detekční pufr a vzorek před použitím přibližně 30 minut vytemperovat při pokojové teplotě.
- Přístroj pro testy ichroma™ může během používání vytvářet mírné vibrace.
- S použitými kazetami, detekčními pufrů a odběrovými kapilárami je třeba zacházet opatrně a likvidovat je vhodným způsobem v souladu s příslušnými místními předpisy.
- Detekční pufr obsahuje azid sodný (NaN₃), který může způsobit zdravotní problémy, jako jsou křeče, nízký krevní tlak a zpomalená srdeční frekvence, případně ztráta vědomí, poškození plic a selhání dýchání. Zabraňte kontaktu s kůží, očima a oděvem. V případě kontaktu okamžitě opláchněte tekoucí vodou.
- Interference s biotinem nebyla u **ichroma™** CRP testu pozorována, pokud byla koncentrace biotinu ve vzorku nižší než 3 500 ng/ml. Pokud pacient užíval biotin v dávce vyšší než 0.03 mg denně, doporučuje se znovu odebrat krev 24 hodin po ukončení užívání biotinu.
- **ichroma™** CRP test poskytuje přesné a spolehlivé výsledky za níže uvedených podmínek.
 - **ichroma™** CRP test by se měl používat pouze ve spojení s přístrojem pro testy ichroma™.
 - **Je nutno použít doporučené antikoagulans.**

Doporučené antikoagulans

K₂ EDTA, K₃ EDTA,

Heparin sodný, heparin lithný, citrát sodný

- **Odběrové kapiláry by měly být použity, pokud jsou splněny následující podmínky.**

- Pro získání správného výsledku testu se doporučuje použít odběrové kapiláry dodané se sadou.
- Plná krev by měla být testována ihned po odběru.
- Přebytečný vzorek krve z povrchu kapiláry je třeba setřít.
- Aby nedošlo ke křížové kontaminaci, nepoužívejte odběrovou kapiláru opakovaně pro

více vzorků.

OMEZENÍ TESTOVACÍHO SYSTÉMU

- Test může poskytnout falešně pozitivní výsledek (výsledky) v důsledku zkřížených reakcí a/nebo nespecifické adheze určitých složek vzorku na zachycující/detekční protilátku.
- Test může poskytnout falešně negativní výsledek (výsledky) v důsledku chybějící reaktivity antigenu s protilátkami, což je nejčastěji v případě, kdy je epitop maskován určitými neznámými složkami a proto není schopen být detekován nebo zachycen protilátkami. Nestabilita nebo degradace antigenu časem a/nebo teplotou může rovněž způsobit falešně negativní výsledek, protože antigen se tím stává nerozpoznatelným pro protilátku.
- I další faktory mohou ovlivnit test a způsobit chybné výsledky, jako jsou technické/procedurální chyby, degradace testovaných složek/reagentů nebo přítomnost interferujících látek v testovaných vzorcích.
- Jakákoliv klinická diagnóza založená na výsledku testu musí být podložena komplexním posouzením příslušného lékaře v souvislosti s klinickými příznaky a dalšími relevantními výsledky testů.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Komponenta	Podmínky skladování		
	Skladovací teplota	Doba skladování	Poznámka
Kazeta	2 - 30 °C	20 měsíců	Jednorázové
Detekční pufr	2 - 8 °C	20 měsíců	Jednorázové

- Po otevření sáčku s kazetou by měl být test proveden okamžitě.

DODÁVANÉ MATERIÁLY

i-CHROMA CRP-25

Komponenty **ichroma™** CRP testu:

- Krabice s kazetami:
 - Kazeta 25
 - Odběrová kapilára 25
 - ID čip 1
 - Návod k použití 1
- Detekční pufr:
 - Detekční pufr 25

POŽADOVANÉ MATERIÁLY, DODÁVANÉ NA VYŽÁDÁNÍ

Následující položky lze zakoupit samostatně od produktu **ichroma™** CRP testu.

Pro více informací kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o..

- Přístroj pro testy ichroma™

- **ichroma™** II
- **ichroma™** III
- **ichroma™** M3

- Tiskárna
- Boditech CRP Control

ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Typem vzorku pro **ichroma™** CRP test je lidská plná krev/sérum/plazma.

- Doporučuje se testovat vzorek do 24 hodin po odběru krve.
- Vzorek (sérum, plazma) by měl být oddělen od koagula centrifugací do 3 hodin po odběru plné krve.
- Vzorky (plná krev, sérum, plazma) mohou být před testováním skladovány po dobu jednoho týdne při teplotě 2-8 °C. Pokud bude testování odloženo o více než týden, měly by být vzorky (sérum, plazma) zmrazeny při teplotě nižší než -20 °C.
- Vzorky (sérum, plazma) uchovávané po dobu 3 měsíců ve zmrazeném stavu při teplotě pod -20 °C nevykazovaly žádné rozdíly ve výkonnosti.
- Vzorek plné krve by se však v žádném případě neměl uchovávat v mrazničce.
- Opakovaný cyklus zmrazování a rozmrazování může ovlivnit výsledek testu, proto dříve zmrazené vzorky znovu nezmrazujte.
- Vzorek plné krve lze odebrat podle níže uvedeného postupu:
 - ① V zájmu bezpečnosti používejte jednorázové rukavice a ochranné pomůcky.
 - ② Otevřete sáček se zipem, který obsahuje odběrové kapiláry.
 - ③ Vyjměte odběrovou kapiláru a zkontrolujte, zda není poškozena nebo znečištěna.
 - ④ Odběrovou kapilárou se dotkněte kapky kapilární krve.
 - ⑤ Zcela ji naplňte krví.
 (Ujistěte se, že v odběrové kapiláře nejsou přítomny vzduchové bubliny. Na zevní straně odběrové kapiláry nesmí být krev. Pokud je krev na povrchu odběrové kapiláry, opatrně ji odstraňte tamponem).

PŘÍPRAVA TESTU

- Zkontrolujte obsah **ichroma™** CRP testu: zatavené kazety, detekční pufrů, odběrové kapiláry, ID čip a návod k použití.
- Ujistěte se, že číslo šarže kazet odpovídá číslu detekčních pufrů a ID čipu.
- Pokud byly zatavená kazeta a detekční pufr uloženy v chladničce, umístěte je před testováním na čistý a rovný povrch vytemperovat při pokojové teplotě alespoň na 30 minut.
- Zapněte přístroj pro testy ichroma™.
- Vlozte ID čip do "portu pro ID čip".
- ✳ **Kompletní informace a návod k obsluze naleznete v návodu k obsluze přístroje pro testy ichroma™.**

TESTOVACÍ POSTUP

► **ichroma™** Reader, **ichroma™** II, **ichroma™** M3

Režim "Multi"

- 1) Proveďte vpich do horní straně nádoby s detekčním pufrům pomocí prázdné odběrové kapiláry.
- 2) Odběrovou kapilárou odeberte 10 µl vzorku (plná krev/sérum/plazma/kontrola).
- 3) Sestavte odběrovou kapiláru a nádobku s detekčním pufrům do jednoho celku.
- 4) Desetkrát a vícekrát převraťte, dokud vzorek z kapiláry nevyteče do pufru. Směs pufru a vzorku musí být použita do 30 sekund.
- 5) Odstraňte víčko z horní části sestaveného kompletu. Dvě kapky činidla před nanesením na kazetu odkapejte na papírovou utěrku.
- 6) Do jamky pro vzorek na kazetě naneste dvě kapky směsi.
- 7) Před vložením kazety do nosiče kazet ji nechte 3 minuty inkubovat na rovném povrchu při pokojové teplotě.
⚠ Po uplynutí inkubační doby ihned naskenujte kazetu se vzorkem. V opačném případě dojde k nepřesnému výsledku testu.
- 8) Pro naskenování kazety se vzorkem ji vložte do nosiče kazet v přístroji pro testy ichroma™. Před zasunutím kazety do nosiče až na doraz zajistěte její správnou orientaci. Na kazetě je speciálně pro tento účel vyznačena šipka.
- 9) Stisknutím tlačítka "Select" nebo klepnutím na tlačítko "Start" na přístroji pro testy ichroma™ zahájíte proces skenování.
(přístroj ichroma™ M3 po vložení kazety zahájí test automaticky.)
- 10) Přístroj pro testy ichroma™ začne okamžitě skenovat kazetu se vzorkem.
- 11) Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje.

Režim "Single"

- 1) Postup testu je stejný jako u "testovacího režimu Multi 1) - 6)".
- 2) Vložte kazetu se vzorkem do nosiče kazet v přístroji pro testy ichroma™. Před zasunutím kazety do nosiče zajistěte její správnou orientaci. Na kazetě je speciálně pro tento účel vyznačena šipka.
- 3) Stiskněte tlačítko "Select" nebo klepněte na tlačítko "Start" na přístroji pro testy ichroma™. (přístroj ichroma™ M3 zahájí test automaticky.)
- 4) Kazeta se zasune do přístroje pro testy ichroma™ a po 3 minutách se automaticky spustí skenování kazety se vzorkem.
- 5) Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje.

► ichroma™ III

- 1) Postup testu je stejný jako v režimu "Single".

INTERPRETACE VÝSLEDKU TESTU

- Přístroj pro testy ichroma™ automaticky vypočítá výsledek testu a zobrazí koncentraci CRP v testovaném vzorku v mg/l.
 - **Hodnota cut-off : 10 mg/l**
 - **Pracovní rozsah: 2,5-300 mg/l**
 - Vliv hematokritu
- Měření hodnoty CRP v plné krvi je v přístroji pro testy ichroma™ kalibrováno tak, aby se odečetla koncentrace CRP v séru u vzorku krve s hematokritem 40 %. Pokud se skutečná hodnota hematokritu odchyluje od 40 %, je třeba výsledek korigovat vynásobením příslušným faktorem uvedeným v tabulce:

Hct (%)	Faktor	Hct (%)	Faktor
20-29	0.8	56-58	1.4
30-36	0.9	59-61	1.5
37-42	1.0	62-63	1.6
43-47	1.1	64-65	1.7
48-51	1.2	66-67	1.8
52-55	1.3	68-69	1.9

Referenční rozmezí, HCT:

- Ženy: 35-44 %
- Muži: 39-48 %

KONTROLA KVALITY

- Testy kontroly kvality jsou součástí správné laboratorní praxe pro potvrzení očekávaných výsledků a platnosti testu, a měly by se provádět v pravidelných intervalech.
- Testy kontroly kvality by měly být prováděny také vždy, když existuje jakákoliv pochybnost o platnosti výsledků testu.
- Kontrolní materiály jsou poskytovány na vyžádání s ichroma™ CRP testem. Pro více informací ohledně získání kontrolních materiálů kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o. Ovesná 14, 779 00 Olomouc (Viz návod k použití kontrolního materiálu.)

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

- **Analytická citlivost**
 - Limit blanku (LoB) 0,22 mg/l
 - Limit detekce (LoD) 0,37 mg/l
 - Limit stanovitelnosti (LOQ) 0,50 mg/l

- **Analytická specifita**

- Interference
Do testovaného vzorku (vzorků) byly přidány interferenty v níže uvedených koncentracích. Výsledky testu ichroma™ CRP neprokázaly žádné významné interference s těmito materiály.

Interferent	Konc.
Kyselina askorbová	350 µmol/l
Bilirubin (konjugovaný)	475 µmol/l
Albumin	60 g/l
Glukóza	1 000 mg/dl
Směs triglyceridů (Triglyceridy celkem)	1 500 mg/dl
Hemoglobin	10 g/l
Biotin	3 500 ng/ml

K2-EDTA	5,45 mg/ml
K3-EDTA	5,45 mg/ml
Na-Heparin	10,41 mg/ml
Li-Heparin	10,44 mg/ml
Citrát sodný	32 mg/ml

- Zkřížená reaktivita

Do testovaného vzorku (vzorků) byly přidány v tabulce uvedené biomolekuly v koncentraci mnohem vyšší, než jsou jejich normální fyziologické hladiny v krvi. Výsledky testu ichroma™ CRP neprokázaly žádnou významnou zkříženou reaktivitu s těmito biomolekulami

Zkříženě reagující látka	Conc.
IL-6	50 µg/ml
PCT	50 µg/ml
Sérový amyloid P	500 µg/ml
Sérový amyloid A	500 µg/ml
feritin	500 µg/ml

■ Preciznost

- Studie na jednom místě

Opakovatelnost (přesnost v rámci série)

Přesnost v rámci laboratoře (celková přesnost)

Přesnost mezi šaržemi

- Tři šarže přípravku ichroma™ CRP byly testovány po dobu 20 dnů na jednom místě jednou osobou. Každý standardní materiál byl testován ve 2 sériích denně. Při každém testu byl každý standardní materiál testován duplicitně.

Konc [mg/l]	Opakovatelnost				Preciznost v rámci laboratoře			
	N	Průměr [mg/l]	SD	CV (%)	N	Průměr [mg/l]	SD	CV (%)
5.00	40	5.10	0.29	5.8	80	5.07	0.30	5.9
10.00	40	10.04	0.53	5.2	80	10.07	0.53	5.3
150.00	40	151.08	9.46	6.3	80	152.64	11.05	7.2
Konc [mg/l]	Preciznost mezi šaržemi							
N	Průměr [mg/l]	SD	CV (%)					
5.00	240	5.05	0.32	6.4				
10.00	240	10.06	0.52	5.2				
150.00	240	153.75	8.55	5.6				

- Studie na více místech

Jedna šarže ichroma™ CRP testu byla testována po dobu 5 dnů na třech místech (na každém místě jednou testující osobou, jedním analyzátořem). Každý standardní materiál byl testován v 5 opakováních za den.

Konc [mg/l]	Reprodukovatelnost				
	N	Průměr [mg/l]	SD	CV (%)	CV (%)
5.00	75	5.03	0.18	3.56	
10.00	75	9.75	0.37	3.80	
150.00	75	151.21	5.32	3.52	

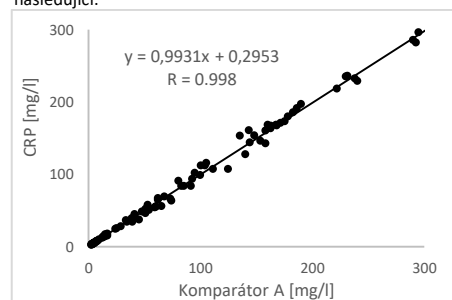
■ Přesnost

Přesnost byla potvrzena testováním 3 různých šarží, třikrát při každé koncentraci mezinárodního standardu (ERM-DA474 IFCC HUMAN SERUM).

	Šarže 1		Šarže 2		Šarže 3	
	Výsledek [mg/l]	Bias	Výsledek [mg/l]	Bias	Výsledek [mg/l]	Bias
Run 1	42.16	2.3%	40.88	-0.8%	41.68	1.2%
Run 2	41.09	-0.3%	42.33	2.7%	41.35	0.4%
Run 3	41.53	0.8%	41.15	-0.1%	40.09	-2.7%

■ Porovnatelnost

Koncentrace CRP ve 100 klinických vzorcích byly kvantifikovány nezávisle na sobě pomocí ichroma™ CRP testu (ichroma™ II) a komparátoru A podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testů byly porovnány a jejich porovnatelnost byla zkoumána pomocí lineární regrese a korelačního koeficientu (R). Regresní rovnice a korelační koeficient jsou následující.



ODKAZY

1. Pepys MB and Hirschfeld GM. C-reactive protein: a critical update. J Clin. Invest 2003; 111:1805-1812.
2. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. Mol Immunol 2001;38:189-197.
3. Koenig W, Sund M, Frohlich M, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-

- aged men. Circulation 1999; 99:237-242.
4. Rifai N, Ridker PM. Proposed Cardiovascular Risk Assessment Algorithm Using High-Sensitivity C-reactive protein and Lipid Screening. Clin. Chem. 2001; 47:28-30.
 5. Rifai N and Ridker PM. High-Sensitivity C-Reactive Protein: A novel and Promising Marker of Coronary Heart Disease. Clin. Chem. 2001; 47(3): 403-411.
 6. Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. Circulation 1999; 99:855-860.
 7. Taubes G. Does inflammation cut to the heart of the matter? Science 2002; 296:242-245.
 8. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, and Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. N Engl J Med 2000;342(12): 836-843.
 9. Brooks DE, Devine DV, Harris PC, et al. RAMP(TM): A rapid, quantitative whole blood immunochromatographic platform for point-of-care testing. Clin Chem 1999; 45:1676-1678.
 10. Oh SW, Moon JD, Park SY, et al. Evaluation of fluorescence hs-CRP immunoassay for point-of-care testing. Clin Chim Acta 2005; 356:172-177.
 11. Claus DR, Osmond AP, Gewurz H. Radioimmunoassay of human C-reactive protein and levels in normal sera. J. Lab. Clin Med 1976;87:120-128.
 12. Kindmark CO. The concentration of C-reactive protein in sera from healthy individuals. Scand J Clin Lab Invest 1972;29:407-411

UPOZORNĚNÍ: Pro identifikaci symbolů slouží níže uvedená tabulka.

	Dostačující pro <n>
	Čtěte návod k použití
	Spotřebujte do (datum expirace)
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Upozornění
	Výrobce
	Zplnomocněný zástupce Evropského společenství
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Skladujte při (omezení teploty)
	Nepoužívejte opakovaně
	Tento produkt splňuje požadavky směrnice 98/79/EC pro diagnostické prostředky in vitro

Distribuce a technická podpora:

EXBIO Olomouc s.r.o.

Ovesná 14

779 00 Olomouc

Tel: 587 301 011

Email: info@exbio.com

Boditech Med Inc.

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si,

Gang-won-do, 24398 Republic of Korea

Tel: +(82)-33-243-1400

Fax: +(82)-33-243-9373

www.boditech.co.kr

Obelis s.a

Bd. Général Wahis 53, 1030 Brusel, Belgium

Tel: +(32)-2-732-59-54

Fax: +(32)-2-732-60-03

E-mail: mail@obelis.net

