



Lékařská technika a speciální zdravotní materiál

Společnost je zapsána v obchodním rejstříku Městského soudu v Praze, odd. C vložka 1299

Obchodní 110, 251 70 Praha Čestlice

Tel. +420 296 328 300

Fax. +420 296 328 320

NycoCard[®] :: *READER II*

CRP

SINGLE TESTS

CRP kvantitativní stanovení pomocí přístroje NycoCard Reader II

Axis - Shield

NycoCard – CRP SINGLE TEST - pro stanovení C reaktivního proteinu

Popis testu

Klinické použití

NycoCard CRP je rychlý imunochemický test pro stanovení C reaktivního proteinu v plazmě, séru a plné krvi.

Princip testu

NycoCard CRP je test založený na principu sendvičové imunofiltrační metody. V testu je využito membrány jako pevné fáze, na které jsou naneseny specifické protilátky anti – CRP.

Naředěný roztok vzorku je aplikován na membránu. Vzorek prosákne membránou, CRP je zachycen a navázán na anti-CRP protilátku. Po aplikaci R2 protilátky konjugované zlatem dojde k sendvičové vazbě této protilátky na CRP navázaném na membráně. Přebytečný konjugát je vymyt z membrány promývacím roztokem. Papírová vrstva pod membránou absorbuje přebytečný roztok. Při patologických hodnotách CRP ve vzorku dojde k zabarvení membrány do purpurově červené barvy. Intenzita zabarvení odpovídá koncentraci CRP ve vzorku. Barevná intenzita je hodnocena kvantitativně přístrojem NycoCard Reader II.

Obsah kitu

Testovací terče

Každý terč s jamkou a filtrační membránou,
baleno jednotlivě s ochrannou fólií

1 x 24 nebo 2 x 24 kusů

R1 ředící roztok

Borátový pufr (pH 9,0) a detergenty

1 x 26x 0,4 ml nebo 2 x 26 x 0,4 ml

R2 Konjugát

Konjugát obsahuje monoklonální protilátku anti-CRP konjugovanou ultra malými částčkami zlata

1 x 3,0 ml

R3 Promývací roztok

Borátový pufr (pH 9,0) a detergenty

1 x 3,0 ml

C Pozitivní kontrola

Lidské sérum obsahující purifikovaný CRP

1 x 0,5 ml

Odběrové kapiláry objem 5μl

60 kusů

Materiál nutný k provedení testu

- pipeta a špičky k aplikaci naředěného vzorku

Příslušenství

- ♦ pipeta 50μl a špičky
- ♦ držák na kapiláry
- ♦ stojan na zkumavky
- ♦ stojan na pipety
- ♦ NycoCard Reader II

Upozornění – bezpečnostní opatření

Použití pouze pro IVD

- nepoužívejte reagenty z jiných testovacích souprav
- nepoužívejte soupravu po uplynutí data expirace
- reagenty a kontrola obsahují azid sodný $\leq 0,1\%$, který je toxický. Vyvarujte se kontaktu s pokožkou a vniknutí do očí. Vypláchněte důkladně postižené místo proudem vody.
- R1 ředící roztok obsahuje detergenty, které dráždí oči i pokožku. Při kontaktu s kůží vypláchněte proudem vody
- kontrola je připravena z lidské krve od dobrovolných dárců krve. Je kontrolována a vykazuje negativitu infekcí působených viry HBV, HCV a HIV. Přesto je nutné pracovat s kontrolou jako s infekčním materiálem.

Specifikace testu

Specifita

K provedení testu je použita specifická monoklonální protilátka proti lidskému CRP.

Jiné komponenty lidské krve nevykazují zkříženou reaktivitu s CRP protilátkou v NycoCard CRP testu.

Standardizace

NycoCard CRP Test je kalibrován proti CRM 470 (IFCC/BCR/CAP referenčnímu materiálu).

Měřitelné rozhraní

měřitelné rozhraní pro test z plné krve 8 - 200 mg/l

měřitelné rozhraní pro test ze séra a plazmy 5 – 120 mg/l

Interval měření

NycoCard Reader II: 1 mg/l

Referenční hranice

Referenční hranice pro CRP test v séru se pohybuje pod 5 mg/l.

Přesnost

Při kontrole v laboratoři byl variační koeficient (CV) $\leq 5\%$ (u hladin nad 20 mg/l) a $\leq 7\%$ (u hladin nižších než 20 mg/l)

Upozornění – interference

- Heparin citrát nebo EDTA použité jako antikoagulační činidlo neinterferují s výsledkem testu.
- Vysoké hladiny bilirubinu, lipidů nebo reumatoidního faktoru (RF) nikterak nebo jen zanedbatelně ovlivňují výsledek testu.
- Příliš vysoké hladiny leukocytů ($> 40 \times 10^9/L$) a přítomnost makroglobulinémie ve vzorku mohou případně falešně ovlivnit výsledek testu.
- Korekci bychom měli provést i při odchylce hodnot hematokritu a to od 40%. (viz. ovlivnění hematokritem)

Skladování a stabilita

Uzavřená souprava

Soupravu skladujte při 2° - 8°C do konce expirační doby v originálním balení. Vyvarujte se teplotám vyšším než 25°C, vlhkosti a přímému slunečnímu záření. Nemrazte!

Otevřená souprava

Testovací terče – stabilní po dobu expirace při skladování 2° - 8° C nebo po dobu 6 týdnů při 15°C – 25°C. Testovací terče jsou uzavřeny v originálním balení, jsou ihned k použití.

Reagencie R1 ředící roztok – uchovávejte při 2°- 25°C do konce expirační doby.

Reagencie R2 konjugát – uchovávejte při 2°- 8°C do konce expirační doby nebo 6 týdnů při 15 C – 25°C. (na konci pracovního dne uložte do chladu). Chraňte před přímým slunečním zářením.

Reagencie R3 promývací roztok – uchovávejte při 2°- 25°C do konce expirační doby.

Kontrola – uchovávejte při 2°C – 8°C. Po otevření stabilní po dobu 4 týdnů při 2°C – 8°C, nesmí dojít ke kontaminaci.

Vzorky - plná krev -s antikoagulačním činidlem stabilní po dobu 3 dnů při 2°C – 8°C.

- **sérum / plazma** - stabilní po dobu 3 dnů při 2°C -8°C. Pro delší uchování možno sérum nebo plazmu uchovat při – 20°C.

- **naředěný vzorek roztokem R1** - analýzu naředěného vzorku roztokem R1 proveďte nejpozději do 1 hodiny (při použití EDTA s krví nebo plazmou zpracujte vzorek do 15 min.).

Provedení testu

Důležité upozornění

- reagencie R1 ředící roztok a odběrové kapiláry musí mít pokojovou teplotu 15°C – 25°C
- reagencie R2 konjugát a R3 promývací roztok a testovací kazety mohou být použity chladné nebo vytemperované na pokojovou teplotu
- vždy použijte novou špičku
- nedotýkejte se špičkou pipety membrány
- dodržujte jednotlivé kroky v postupu přesně podle návodu
- lahvičky po použití důkladně uzavřete

Vzorek

K vyšetření se používá kapilární nebo venózní krev s nebo bez antikoagulačního činidla (Heparin, citrát, EDTA), sérum nebo plazma (Heparin, citrát nebo EDTA).

Vnitřní kontrola

Pozitivní kontrola se provádí pro kontrolu správnosti provedení testu a kontrolu kvality reagensů. Kontrola se provádí současně s testovaným vzorkem pacienta.

Upozornění

Při hodnocení testu CRP Sérum /Plazma je výsledek odečítán reflektometrem NycoCard Reader II.

Naměřené hodnoty musí dosahovat rozmezí uvedené na lahvičce kontroly.

Postup

Vyznačte číslo pacienta na testovací terč

- **Ředění vzorku**

Naplňte kapiláru o objemu 5 μ l vzorkem krve pacienta nebo kontrolou. Kapiláru vložte do zkumavky s ředícím roztokem R1. Uzavřete zkumavku a promíchejte po dobu 10 sec.

Upozornění – zabraňte tvorbě vzduchových bublin v kapiláře

- **Aplikace vzorku**

Aplikujte 50 μ l naředěného vzorku ze zkumavky R1 do jamky testovacího terče. Veškerý vzorek musí prosáknout membránou do 30 sec.

Upozornění - při aplikaci se nesmíte dotknout membrány. Zabraňte tvorbě vzduchových bublin.

- **Aplikace roztoku R2 konjugát**

Aplikujte jednu kapku konjugáčního roztoku R2 do středu testovací jamky. Vsáknutí musí proběhnout do 30 sec.

Upozornění – konjugáční činidlo kapejte přímo z lahvičky z výšky asi 1 cm nad testovací jamkou ve vertikální poloze. Konjugáční činidlo před použitím promíchejte otočením lahvičky.

- **Aplikace promývacího roztoku R3**

Aplikujte jednu kapku promývacího roztoku R3 do středu testovací jamky. **Upozornění** – promývací roztok kapejte přímo z lahvičky z výšky asi 1 cm nad testovací jamkou ve vertikální poloze. Okolí testovací jamky osušte.

- **Odečítání výsledku**

Odečtení výsledku proveďte do 5 min. reflektometrem NycoCard Reader II.

Při použití přístroje postupujte podle manuálu NycoCard Reader II.

Vyhodnocení a interpretace výsledků

Hematokritový efekt

CRP v plné krvi je v menu NycoCard Reader II kalibrován a nastaven na krevní vzorek mající hodnotu hematokritu 40 %. Pokud se aktuální hodnota hematokritu liší od 40%, je nutné provést korekci násobením podle níže uvedené tabulky.

Tabulka

Hbt %	Faktor	Hbt %	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 hranice, Hct:

Ženy 35 – 44 %, Muži 39 – 48%

Zvýšené hodnoty CRP

CRP hladiny nad 10 mg/l jsou obvykle posuzovány jako patologické.

Virové a mírné bakteriální infekce působí mírné až střední zvýšení koncentrací CRP (do 50 mg/l).

U těžších bakteriálních infekcí se hladiny CRP pohybují nad 50 mg/l.

Odstranění problémů

Problém	Závada	Řešení
Nízké hodnoty	Nesprávné množství vzorku	Překontrolujte, zda je kapilára čirá. Vyvarujte se vzduchovým bublinám.
	Nesprávné množství ředěného vzorku	Překontrolujte pipetu (kalibrujte pipetu nebo vyměňte MiniPet jednou za rok) Špička musí být na pipetu dobře nasazena. Opakujte test.
	Příliš dlouhá doba (>2 min) mezi kroky 2 a 3	Opakujte test. Kroky 2 až 4 musí být provedeny v přesném čase za sebou.
Vysoké hodnoty	Vysoké hodnoty leukocytů (>40 x 10/L) nebo přítomnost makroglobulínů mohou způsobit zakalení naředěného vzorku. Čas mezi absorpcí vzorku do testovací kazety bude stoupat podle blokování (ucpání) membrány (≥ 30 sec)	Projasnění vzorku lze provést opakováním centrifugace. Alternativně provést test v séru nebo plazmě.
	Nesprávné množství vzorku	Vyvarujte se nesprávného množství vzorku v kapiláře.
	Nesprávné množství ředěného vzorku	Překontrolujte pipetu (vyměňte pipetu jednou za rok) Špička musí být dobře nasazena na pipetu
	Reagencie aplikované do testovacího terče po předcházející reagentii se nevsákly úplně	Proveďte test ještě jednou. Vyčkejte, až se reagentie úplně vsákne před aplikací další reagentie.
	Příliš dlouhá doba (> 2 min) mezi kroky 3 a 4	Opakujte test. Kroky 2 až 4 musí být provedeny v přesném čase za sebou.