



DyonCRP® (C-reactive protein)

No. Καταλόγου: DNDL101

Ταχεία δοκιμασία ημιποσοτικής ανίχνευσης C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σε δείγμα ολικού αίματος, τριχοειδικού αίματος, ορού ή πλάσματος

ΣΥΝΟΨΗ

Η **DyonCRP® (C-reactive protein)** είναι μια ταχεία, μη επεμβατική, εξαιρετικά ακριβής και εύκολη στην εκτέλεση ποιοτική δοκιμασία που επιτρέπει στον επαγγελματία υγείας να ανιχνεύσει ημιποσοτικά C-αντιδρώσα πρωτεΐνη σε δείγμα ολικού αίματος ορού ή πλάσματος.

Η πρωτεΐνη οξείας φάσης (CRP, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη) είναι ένας μείζων δείκτης για τη διάγνωση φλεγμονής ή και ιστικής νέκρωσης. Η σύνθεση της CRP πραγματοποιείται στο ήπαρ και επάγεται από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως ιντερλευκίνη-6. Η CRP φθάνει στην περιοχή της φλεγμονής μέσω του πλάσματος και συμβάλλει ενεργά στην ενδογενή ανοσολογική απάντηση. Οι συστηματικές φλεγμονές συνοδεύονται από δραστική αύξηση της συγκέντρωσης CRP στο αίμα. Τα τελευταία χρόνια, η ανίχνευση CRP στο σημείο ανάγκης φροντίδας του ασθενή (point of care) έχει ενταχθεί επιτυχώς στην καθημερινή πρακτική του επαγγελματία υγείας (εξωτερικά ιατρεία, επείγουσα ιατρική, παθολογικό ιατρείο, Melbye & Stocks, 2006.)

Η μέτρηση των επιπέδων της CRP έχει γίνει πια αναγκαία στην κλινική πράξη και διαφοροδιάγνωση, όχι μόνο σε επείγοντα περιστατικά αλλά και χρόνιες παθήσεις που απαιτούν τη συνεργασία πολλών ειδικοτήτων (Windgassen et al, 2011). Πέρα από την εσωτερική παθολογία, η χρήση της CRP επεκτείνεται στην καρδιολογία, ογκολογία χειρουργική, ορθοπαιδική και ρευματολογία (Felson et al., 2011). Επίσης η CRP κρίνεται αναγκαία στη λοιμωξιολογία και παιδιατρική (Cals et al, 2009), ενώ επιπλέον συμβάλλει και στην προσπάθεια μείωσης της αλόγιστης χρήσης αντιβιοτικών (Cals et al, 2010). Τέλος, στη γαστρεντερολογία η CRP αποτελεί ένα βασικό δείκτη διαφοροδιάγνωσης μεταξύ φλεγμονωδών νόσων του εντέρου, καθώς και παρακολούθησης της θεραπείας (Langhorst et al, 2008; Henriksen et al, 2011; Ricanek et al, 2011).

Τα επίπεδα CRP στο πλάσμα αυξάνονται 6-8 ώρες μετά από μια βακτηριακή λοίμωξη ή ένα τραύμα, φθάνει δε στο ανώτατο όριο της μετά από περίπου 48 ώρες μετά από τη λοίμωξη. Το επίπεδο της CRP μειώνεται γρήγορα μετά από υποχώρηση ή παύση των γενεσιουργών αιτιών, ενώ η CRP έχει χρόνο ημίσειας ζωής 48 ώρες. Κανονικά ο βαθμός φλεγμονής και η δραστηριότητα φλεγμονής επηρεάζουν την αύξηση της CRP. Οι τιμές μεταξύ 10 και 40 mg/l μπορούν να βρεθούν κατά τη διάρκεια ασθενών φλεγμονών όπως σε τοπικές βακτηριακές μολύνσεις, αποστήματα, ελαφρά τραύματα, συχνά σε κακοήθεις όγκους, ιογενείς λοιμώξεις κ.α. Σε σοβαρές φλεγμονώδεις νόσους που απαιτούν άμεση ιατρική αντιμετώπιση οι τιμές της CRP μπορεί να φτάνουν μέχρι τα 100 mg/l. Τιμές επάνω από 100 mg/l μπορούν να βρεθούν κατά τη διάρκεια σηψαιμίας, εγκαυμάτων ή χειρουργικών επεμβάσεων (Macy et al, 1997.)

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η κασέτα εξέτασης **DyonCRP®** δέχεται στην κατάλληλη θέση το δείγμα, το οποίο είναι αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα. Το δείγμα μεταναστεύει κατά μήκος της ταινίας εξέτασης από το κατώτατο σημείο έως το άκρο αυτής. Εάν το δείγμα περιέχει CRP, δεσμεύεται στο πρώτο αντίσωμα αντι-CRP, το οποίο είναι συνδεδεμένο σε ερυθρά σπασμασμένο κολλοειδή χρυσό. Το ερυθρά σπασμασμένο σύμπλεγμα CRP-αντίσωμα μεταναστεύει τώρα μαζί με το δείγμα κατά μήκος της μεμβράνης, στην οποία το δεύτερο αντι-CRP αντίσωμα είναι καθηλωμένο σε γραμμές διαφορετικών συγκεντρώσεων. Το σπασμασμένο σύμπλεγμα CRP-αντίσωμα καθηλώνεται από τα ακινητοποιημένα αντισώματα της μεμβράνης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ερυθρών γραμμών. Ο αριθμός γραμμών εξαρτάται από τη συγκέντρωση της CRP στο δείγμα. Όσο περισσότερη CRP είναι στο δείγμα, τόσο πιο πολλές ερυθρές γραμμές θα εμφανιστούν. Μια επιπλέον ερυθρή γραμμή ελέγχου θα εμφανιστεί στο τέλος της μεμβράνης, ως εσωτερικός έλεγχος της εξέτασης, η οποία δηλώνει τη σωστή διαδικασία εξέτασης. Ο σχηματισμός της γραμμής ελέγχου είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση CRP στο δείγμα. Αποτυχία εμφάνισης της κόκκινης γραμμής ελέγχου σημαίνει ότι το αποτέλεσμα είναι άκυρο. Σε αυτήν την περίπτωση η εξέταση πρέπει να επαναληφθεί.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε το kit σε θερμοκρασία 2-30°C. Αν το kit ήταν αποθηκευμένο στο ψυγείο, θα πρέπει να μεταφερθεί σε θερμοκρασία δωματίου πριν διεξαχθεί η εξέταση. Υπό αυτές τις συνθήκες το kit είναι σταθερό ως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Κάθε kit περιέχει τα εξής:

- 5 κασέτες εξέτασης σε ατομική συσκευασία
- 5 X 10μl τριχοειδή σωληνάρια (για τη συλλογή ολικού αίματος)
- Διάλυμα Buffer
- 5 X Φιαλίδια επεξεργασίας δείγματος
- 5 πλαστικές πιπέτες

- 1 εσώκλειστο με οδηγίες χρήσης στα ελληνικά

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

1. Πριν τη χρήση βεβαιωθείτε ότι όλα τα συστατικά έχουν έρθει σε θερμοκρασία δωματίου. Κρύο ρυθμιστικό διάλυμα ή τυχόν συμπυκνωμένο υγρό στην ταινία εξέτασης μπορεί να οδηγήσει σε άκυρα αποτελέσματα.
2. Εισάγετε 10-12 σταγόνες ρυθμιστικού διαλύματος στο φιαλίδιο επεξεργασίας δείγματος.
3. Χρησιμοποιώντας μια αποστειρωμένη ακίδα, πάρτε μια σταγόνα αίματος (10 μl) από την άκρη ενός δακτύλου (ή 3,5μl ορού ή πλάσματος με πιπέτα που ΔΕΝ παρέχεται).
4. Ακουμπήστε το παρεχόμενο στο kit τριχοειδές σωληνάριο στο τρυπημένο δάκτυλο και παρατηρήστε το αίμα να μεταφέρεται στο τριχοειδές ως ότου αυτό φθάσει στο ανώτερο όριο (περίπου 10 μl) Αραιώστε το συλλεχθέν αίμα άμεσα για να αποφύγετε τυχόν πήξη του.
5. Βάλτε το τριχοειδές όπως είναι, με το αίμα στο σωληνάριο του βήματος 2, που περιέχει το διάλυμα αραιώσεως (εικ 3).
6. Αναμίξτε καλά το διάλυμα στο σωληνάριο για ~10 δευτερόλεπτα, έτσι ώστε το αίμα να απελευθερωθεί από το τριχοειδές οπότε το δείγμα και το διάλυμα αραιώσεως να μπορούν να αναμιχθούν εντελώς.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ-ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Πριν την εξέταση, βεβαιωθείτε ότι το τελικό δείγμα καθώς και η πλαστική συσκευασία με την κασέτα εξέτασης έχουν έλθει σε θερμοκρασία δωματίου. Η κασέτα εξέτασης θα πρέπει να αποσφραγίζεται μόνο λίγο πριν την εξέταση, δεδομένου ότι η μέθοδος είναι ευαίσθητη στην υγρασία.

1. Ανοίξτε τη θήκη αλουμινίου και βγάλτε την κασέτα εξέτασης.
2. Από το αραιωμένο δείγμα (βήμα 5) τοποθετήστε **4-6 σταγόνες** του αραιωμένου δείγματος στην υποδοχή δείγματος (S) της κασέτας.
3. Αφήστε τη κασέτα εξέτασης με το δείγμα σε οριζόντια επιφάνεια.
4. Ξεκινήστε το χρονόμετρο.
5. Περιμένετε την εμφάνιση έγχρωμων γραμμών. Ερμηνεύστε το αποτέλεσμα ακριβώς μετά από 5 λεπτά. (Ερμηνεία των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας για χρόνιες μεγαλύτερες των 7 λεπτών θα δώσει τιμές μεγαλύτερες των πραγματικών.)

ΕΡΜΗΝΕΙΑ

1. Θα εμφανιστεί μια χρωματική ζώνη στο αριστερό τμήμα του παραθύρου αποτελεσμάτων για να δείξει ότι η δοκιμή λειτουργεί σωστά. Αυτή η ζώνη είναι η ζώνη ελέγχου (ζώνη "C").
2. Το μεσαίο σημείο του παραθύρου αποτελεσμάτων υποδεικνύει τη ζώνη αναφοράς (ζώνη "R").
3. Το δεξιό σημείο του παραθύρου αποτελεσμάτων υποδεικνύει τη ζώνη δοκιμής (ζώνη "T").

Συγκέντρωση CRP μικρότερη από 10 mg/L: Δεν υπάρχει ορατή γραμμή (T).

Συγκέντρωση CRP 10 mg/L ή μικρότερη από 30 mg/L: Η ένταση της γραμμής (T) είναι ασθενέστερη από τη γραμμή αναφοράς (R), υποδεικνύοντας ότι το επίπεδο CRP είναι 10 mg/L έως λιγότερο από 30 mg/L.

Συγκέντρωση CRP 30 mg/L: Η ένταση της γραμμής (T) είναι παρόμοια με τη γραμμή αναφοράς (R) που δείχνει ότι το επίπεδο CRP είναι 30 mg/L.

Συγκέντρωση CRP υψηλότερη από 30 mg/L: Η ένταση της γραμμής (T) είναι πιο σκούρα από τη γραμμή αναφοράς (R), που δείχνει ότι το επίπεδο CRP είναι υψηλότερο από 30 mg/L.

Σημείωση: Γενικά, όσο υψηλότερο είναι το επίπεδο CRP στο δείγμα, τόσο ισχυρότερη θα είναι το χρώμα της ζώνης "T". Δείγμα πολύ υψηλού επιπέδου CRP (>1000 mg/L) μπορεί να προκαλέσει μειωμένη ένταση χρώματος γραμμής «T» (Φαινόμενο Prozone).

Ο χρωματισμός της γραμμής ελέγχου είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση CRP ή αυτόν των γραμμών αποτελέσματος της εξέτασης παρουσιάζοντας πάντοτε έντονο κόκκινο χρώμα.

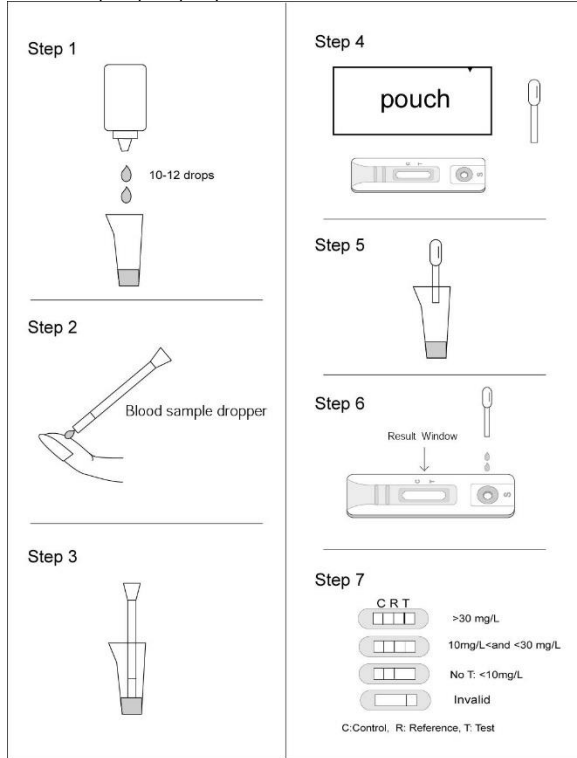
Σημείωση: Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν θα αλλάξει αφού καθοριστεί στα 7 λεπτά. Ωστόσο, για να αποφευχθούν τυχόν εσφαλμένα αποτελέσματα, το αποτέλεσμα της δοκιμής δεν πρέπει να ερμηνεύεται μετά από 7 λεπτά. Ερμηνεύοντας τα αποτελέσματα της δοκιμής μετά από 7 λεπτά, η ευαισθησία της δοκιμής θα είναι μεγαλύτερη από 10 mg/l. Ορισμένα δείγματα με υψηλή συγκέντρωση ρευματοειδούς παράγοντα μπορεί να δώσουν ένα μη ειδικό θετικό αποτέλεσμα.

Άκυρο = Απουσία έγχρωμης γραμμής στη Ζώνη Ελέγχου (C).

Το τεστ είναι άκυρο εφόσον δεν εμφανιστεί καμία γραμμή στη Ζώνη Ελέγχου (C), ακόμα και αν μια έγχρωμη γραμμή έχει εμφανιστεί στη Ζώνη Εξέτασης (T). Αν συμβεί αυτό ξαναδιαβάστε τις οδηγίες και



επαναλάβετε το τεστ χρησιμοποιώντας μια νέα συσκευή ή επικοινωνήστε με την Dyonmed S.A.



τις δικές του οδηγίες ελέγχου και πιστοποίησης.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

- Βαθμονόμηση:** Η δοκιμασία βαθμονομήθηκε βάσει του διεθνούς τυποποιημένου προτύπου 85/506 του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Το όριο ανίχνευσης της ταινίας εξέτασης **DyonCRP** είναι βαθμονομημένο με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε μια συγκέντρωση 10 mg/l στα αδιάλυτα δείγματα να οδηγεί σε μια θετική κόκκινη γραμμή μετά από τη διάλυση με τον παρεχόμενο διαλύτη.
- Συγκριτική Μελέτη Λειτουργίας:** Η **DyonCRP** συγκρίθηκε με ένα εμπορικά διαθέσιμο ημιποσοτικό kit ανίχνευσης CRP για ένα εύρος συγκεντρώσεων από 0 έως 200 µg/ml. Σε κάθε συγκέντρωση CRP έγινε τριπλή ανάλυση και με τις δύο μεθόδους (78 αναλύσεις συνολικά). Τα αποτελέσματα έδειξαν ακρίβεια μεγαλύτερη του 99.9% της δοκιμασίας **DyonCRP** σε σχέση με μέθοδο αναφοράς.
- Μελέτη Λειτουργίας σε Ιατρεία (ΜΛΙ):** Η **DyonCRP** ελέγχθηκε σε 3 διαφορετικά ΜΛΙ χρησιμοποιώντας δείγματα αρνητικά, ασθενώς θετικά, μετρίως θετικά και έντονα θετικά. Κάθε επίπεδο δείγματος ελέγχθηκε σε επαναλήψεις των 5 σε διάστημα 5 ημερών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ακρίβεια 100% με τις αναμενόμενες τιμές.
- Μελέτη Ακρίβειας:** 3 εργαστήρια έλαβαν δείγματα ολικού αίματος με διπλή τυφλή διαδικασία στα οποία προστέθηκε κεκαθαρωμένη CRP. 6 δείγματα ετοιμάστηκαν με συγκεντρώσεις 10, 30, 40, 70, 80 και 100 µg/ml CRP. 5 πανομοιότυπα δείγματα κάθε συγκέντρωσης εξετάστηκαν σε κάθε εργαστήριο με συνολικό έλεγχο 30 ελέγχων ανά εργαστήριο. Όλα τα δείγματα επίσης ελέγχθηκαν από τη δοκιμασία **DyonCRP**. Τα αποτελέσματα έδειξαν 100% συμφωνία με τις αναμενόμενες τιμές.
- Μελέτες παρεμβολής. Α.** Οι παρακάτω πιθανώς παρεμβάλλουσες ουσίες αποδείχθηκε ότι δεν παρεμβαίνουν στον υπολογισμό της CRP από την ταχεία δοκιμασία **DyonCRP** ως τις ενδεικνυόμενες συγκεντρώσεις: Acetaminophen, 20 mg/dl; Acetyl salicylic Acid, 20 mg/dl; Ascorbic Acid, 20 mg/dl; Atropine, 20 mg/dl; Bilirubin, 60 mg/dl; Caffeine, 20 mg/dl; Creatinine, 20 mg/dl; Gentisic Acid, 20 mg/dl; Glucose, 2000 mg/dl; Hemoglobin, 500 mg/dl; Ketones, 40 mg/dl; Mestranol, 3 mg/dl; Nitrite, 20 mg/dl; Penicillin, 40,000 U/dl; Sodium Heparin, 3 mg/dl; Lithium Heparin, 3 mg/dl.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Λάβετε προφυλάξεις αναφορικά με τη συλλογή, διαχείριση, αποθήκευση και απόρριψη των δειγμάτων και χρησιμοποιημένων συστατικών του kit. Χειριστείτε όλα τα δείγματα σαν να περιέχουν μολυσματικούς παράγοντες. Λάβετε προφυλάξεις ενάντια στους μικροβιολογικούς κινδύνους σε όλη τη διαδικασία. Εφαρμόστε τυποποιημένες διαδικασίες για την κατάλληλη απόρριψη των δειγμάτων. Η λειτουργία της συσκευής δεν επηρεάζεται από γνωστούς περιβαλλοντικούς παράγοντες πλην της θερμοκρασίας.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Αν και το CRP Test είναι πολύ ακριβές στην ανίχνευση της CRP, μπορεί να προκύψει χαμηλή επίπτωση ψευδών αποτελεσμάτων. Απαιτούνται άλλες κλινικά διαθέσιμες εξετάσεις εάν ληφθούν αμφισβητούμενα αποτελέσματα.

Όπως συμβαίνει με όλες τις διαγνωστικές εξετάσεις, η οριστική κλινική διάγνωση δεν θα πρέπει να βασίζεται στα αποτελέσματα μιας μόνο εξέτασης, αλλά θα πρέπει να γίνεται μόνο από τον ιατρό αφού αξιολογηθούν όλα τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα.

1. Η δοκιμασία **DyonCRP** πρέπει να χρησιμοποιείται για την ποιοτική ανίχνευση της ανθρώπινης CRP. Η CRP δεν είναι ειδικός δείκτης για συγκεκριμένες νόσους. Όπως σε όλες τις in vitro διαγνωστικές δοκιμασίες το αποτέλεσμα δεν πρέπει ποτέ να ερμηνευθεί από μόνο του, αλλά σε σχέση και με άλλα κλινικά ευρήματα. Συχνά η αύξηση της CRP προηγείται των πραγματικών συμπτωμάτων, οπότε το χρονικό πλαίσιο πρέπει να λαμβάνεται υπόψη. 2. Η ιδιοσυγκρασιακή παραλλαγή των τιμών CRP είναι μάλλον μεγάλη. Κανονικά, οι τιμές > 10 mg/l πρέπει να θεωρούνται παθολογικά αυξημένες. 3. Η εξέταση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση καρδιαγγειακού κινδύνου επειδή δεν είναι αρκετά ευαίσθητη για αυτό. 4. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας ισχύουν μόνο εφόσον τα περιεχόμενα της συσκευασίας είναι σε καλή κατάσταση. 5. Η συσκευή **DyonCRP** είναι για μια μόνο χρήση. Στην περίπτωση που ένα διαλυτοποιημένο δείγμα πρέπει να επανελεγχθεί χρησιμοποιήστε μια άλλη συσκευή. 6. Η δοκιμασία **DyonCRP** απευθύνεται αποκλειστικά σε επαγγελματίες υγείας.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Εσωτερικός Ποιοτικός Έλεγχος: Η έγχρωμη γραμμή που εμφανίζεται στη Ζώνη (C) είναι ένα εσωτερικό control της διαδικασίας. Βεβαιώνει σωστό όγκο δείγματος και σωστή τεχνική διαδικασία. Ένα καθαρό υπόβαθρο (φόντο) είναι το εσωτερικό αρνητικό control. Αν η εξέταση δουλεύει σωστά το φόντο στη Ζώνη Ελέγχου θα πρέπει να είναι άσπρο έως ελαφρά ροζέ και δεν θα πρέπει να δυσκολεύει την ερμηνεία του αποτελέσματος. **Εξωτερικός Ποιοτικός Έλεγχος:** Κάθε εργαστήριο ή Επαγγελματίας Υγείας που χρησιμοποιεί το τεστ θα πρέπει να εξελίσσει

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Cals et al (2009).** Effect of point of care testing for C reactive protein and training in communication skills on antibiotic use in lower respiratory tract infections: cluster randomized trial. *BMJ*. 2009 May 5;338:b1374. doi: 10.1136/bmj.b1374.
- Cals et al (2010).** Point-of-care C-reactive protein testing and antibiotic prescribing for respiratory tract infections: a randomized controlled trial. *Ann Fam Med*. 2010 Mar-Apr;8(2):124-33.
- Felson et al (2011).** American College of Rheumatology; European League Against Rheumatism. Arthritis Rheum. Mar; 63(3):573-86. doi: 10.1002/art.30129.
- Caswell M.** Effect of patient age on tests of the acute-phase response. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:906-909.
- Anderson R, Hugander A, Ghazi S, Ravan H, Offenbartl S, Nyström P et al.** Diagnostic value of disease history, clinical presentation and inflammatory parameters of appendicitis. *World J Surg* 1999;23(2):133-40.

