

PRODUKTO APRAŠYMAS

Naudojimo tikslai

NycoCard™ CRB testas – tai *in vitro* tyrimas, skirtas kiekybiniam C reaktyvaus baltymo (CRB) nustatymui žmogaus serume, plazmoje ir pilname kraujyje. CRB koncentracijos nustatymas suteikia papildomos informacijos apie infekcijos buvimą ir infekcijos įvertinimą, audinių pažeidimą, uždegimines būkles ir susijusias ligas.

Tyrimo santrauka ir paaškinimas

C reaktyvus baltymas (CRB) yra vienas iš citokinų indukuotų ūmios fazės baltymų, kurio lygis išauga dėl nespecifinio atsako į infekciją ir neinfekcinio uždegiminio proceso^{3,5}. Sveikų žmonių serume ar plazmoje CRB lygis yra žemiau 5 mg/l¹. Ši slenkstinė vertė yra dažnai viršijama per 4-8 valandas po ūmaus uždegiminio įvykio, kur CRB reikšmės gali pasiekti 20-500 mg/l². Padidėjęs CRB lygis visada susijęs su patologiniais pakitimais, todėl CRB koncentracija suteikia informacijos ligos diagnostikai, gydymui ir uždegiminės proceso sekimui²⁻⁵.

Tyrimo principas

NycoCard™ CRB testas yra kietos fazės („sumuštinio“ tipo) formato, imunometrinis tyrimas. Tyrimui skirtoje duobutėje yra membrana, padengta imobilizuotais CRB specifiniais monokloniniais antikūnais. Praskiestas mėginys perkeliamas į tyrimui skirtą įrenginį. Kai mėginys prasiskverbia pro membraną, C-reaktyvūs baltymai yra paveikiami antikūnų. Tuomet likę membranoje CRB prisijungs pridėtą aukso-antikūno konjugatą „sumuštinio“ tipo reakcijoje. Neprišijungę konjugatai pašalinami iš membranos naudojant plovimo tirpalą. Popieriaus sluoksnis po membrana sugeriuoja skysčio likučius. Esant pataloginei CRB koncentracijai mėginyje, membrana taps raudonai-rudos spalvos, kurios intensyvumas bus proporcingas CRB koncentracijai mėginyje. Spalvos intensyvumas kiekybiškai matuojamas naudojant NycoCard™ READER II.

Rinkinio sudėtis: 48 tyrimai

TD/Tyrimo įrenginys 1 x 48 vnt.

Plastmasės įrenginys, turintis membraną, padengtą monokloniniais antikūnais prieš CRB.

R1/Skiedimo skystis 1 x 48 x 0.4 mL

Borato buferis (pH 9.0) ir detergentai

R2/Konjugatas 1 x 3.5 mL

Tirpalas, turintis monokloninių antikūnų prieš CRB, žymėtų ultra mažomis aukso dalelėmis.

R3/Plovimo tirpalas 1 x 3.0 mL

Buferiuotas fosfatu NaCl tirpalas (pH 7.4) ir detergentai.

Reikiamos priemonės (kurios nepateikiamos su rinkiniu)

- Pipetė (50 µL) ir pipetės antgaliai.
- Kapiliarinių vamzdelių laikiklis.
- NycoCard™ READER II.
- 5 µL stikliniai kapiliarai.
- Afinion™ CRB Kontrolė

Ispėjimai ir atsargumo priemonės

- Skirtas *in vitro* diagnostikai.
- Nemaišykite komponentų iš skirtingų komplekto konteinerių.
- Nenaudokite tyrimo rinkinių pasibaigus jų galiojimo terminui.
- Reagentų sudėtyje yra < 0.1% koncentracijos natrio azido kaip konservanto. Natrio azidas yra toksinė medžiaga. Venkite kontaktų su akimis ir oda. Išsipylus reagentams gausiai nuplaukite vandeniu.
- R1/ Skiedimo skystyje yra detergentų, kurie dirgina akis ir odą. Išsipylus ar esant kontaktui su oda, gausiai nuplaukite vandeniu.

TYRIMO CHARAKTERISTIKOS

Analitinis specifiškumas

Tyrimui naudojami monokloniniai antikūnai, specifiški žmogaus CRB. Nepastebėta, kad kokie nors žmogaus kraujo komponentai kryžmiškai sąveikautų su CRB NycoCard™ CRB testo sistemoje.

Standartizacija

NycoCard™ CRB testas kalibruotas naudojant ERM®-DA/IFCC pamatinę medžiagą.

Matavimo ribos

NycoCard™ READER II, SN ≥ 54170:

Pilno kraujo mėginiuose: 8-200 mg/L
Serumo ar plazmos mėginiuose: 5-120 mg/L

Mėginiai	N (Dienos)	CRB vidurkis (mg/L)	Konkreto prietaiso tikslumas CV (%)
Serumas	20	97	5.2
Kontrolė C I	20	22	6.4
Kontrolė C II	20	69	6.6
EDTA-pilnas kraujas	4	51	3.7

Matavimo intervalas: 1 mg/L

Referentiniai dydžiai

< 5 mg/L.¹

Glaudumas

Studija glaudumui įvertinti buvo atlikta pagal CLSI EP5-A2 gaires. Konkretaus prietaiso glaudumas (bendras) buvo nustatytas plazmos mėginiams ir Afinion™ CRB Control I lygiui, Control II lygiui matuojant 20 dienų, kiekvieną mėginį matuojant du kartus t.y. du kartus per dieną. EDTA-pilno kraujo mėginiai buvo tiriami 4 dienas, kiekvieną mėginį matuojant 20 kartų per dieną. Susumuoti duomenys pateikti lentelėje:

Tyrimo apribojimai

Heparinas, citratas ar EDTA, naudojami kaip antikoagulantai, neturi įtakos tyrimui. **Padidėjusi bilirubino, lipidų ar reumatoidinio faktoriaus (RF) koncentracija neturi įtakos** ar tik nežymiai įtakoja tyrimo rezultatus. Labai didelė leukocitų koncentracija (>40x10⁹/L) mėginyje gali sukelti klaidingai didelius rezultatus (žr. "Neatitikimų šalinimas"). Rezultatus reikia koreguoti hematokritui nukrypus nuo 40% (žr. "Hematokrito įtaka").

STABILUMAS IR SAUGOJIMAS

Neatidaryti rinkiniai

Galiojimo terminai nurodyti rinkinio komponentams, saugomiems hermetiškai uždarytuose, originaliuose kontaineriuose esant 2-8°C. Venkite tiesioginių saulės spindulių poveikio ar temperatūros, didesnės nei 25°C. Ne-užšaldykite.

Atidaryti rinkiniai

Venkite tiesioginių saulės spindulių poveikio ar temperatūros, didesnės nei 25°C.

TĮ/Tyrimo įrenginys: stabilus iki galiojimo laiko pabaigos saugant 2-8°C arba 6 savaites 15-25°C temperatūroje (įdėkite į šaldytuvą darbo dienos pabaigoje). Hermetizavimo foliją reikia nuimti prieš pat naudojimą.

R1/Skiedimo skystis: stabilus iki galiojimo laiko pabaigos, laikomas šaldytuve ar kambario temperatūroje (2-25°C).

R2/Konjugatas: stabilus iki galiojimo laiko pabaigos 2-8°C arba 6 savaites 15-25°C temperatūroje (įdėkite į šaldytuvą darbo dienos pabaigoje).

R3/Plovimo tirpalas: stabilus iki galiojimo laiko pabaigos 2-8°C arba 6 savaites 15-25°C temperatūroje (įdėkite į šaldytuvą darbo dienos pabaigoje).

Mėginiai

Pilnas kraujas (su antikoaguliantu): stabilus 3 dienas 2-8°C temperatūroje.

Serumas ar plazma: stabilūs 3 dienas 2-8°C temperatūroje. Ilgesniam saugojimui laikykite mėginius užšaldytus (-20°C).

Mėginiai praskiesti su R1: Ištirkite praskiestą mėginį 1 val. bėgyje (praskiestą kraują su EDTA ar plazmą - 15 min. bėgyje).

TYRIMO PROCEDŪRA

Svarbūs tyrimo eigos nurodymai!

- Prieš tyrimą mėgintuvėlį su R1/Skiedimo skysčiu palaikyti kambario temperatūroje (15-25°C).
- R2/Konjugatas, R3/Plovimo tirpalas ir TD/Tyrimo įrenginys gali būti naudojami šalti arba kambario temperatūros.
- Pažymėkite R1 mėgintuvėlį ir tyrimo įrenginį atitinkamai kaip paciento ar kontrolės mėginį.
- Visada naudokite naują pipetės antgalį.
- Nelieskite tyrimo membranos pipetės antgaliu.
- Procedūros žingsniai turi būti atliekami nuosekliai be pertraukų.
- Kamšteliai turi būti užsukami iškart po naudojimo.

Tiriamoji medžiaga

Galima naudoti kapiliarinį kraują, veninį kraują su ar be antikoagulantų (heparinas, citratas ar EDTA), serumą ir plazmą (heparinas, citratai ar EDTA).

Vidinė kokybės kontrolė

Reikia naudoti Afinion CRP kontrolę reagentų efektyvumui ir teisingam tyrimo atlikimui patvirtinti. Atlikite kontrolę laikantis tos pačios procedūros, kuri taikoma paciento mėginiui.

Pastaba! Naudokite "CRP Serum/Plasma" meniu nuskaityti rezultatus su NycoCard™ READER II. Išmatuota vertė turi būti ant buteliuko pažymėtų verčių ribose.

Tyrimo procedūra

1 Praskieskite mėginį

Užpildykite 5 µL kapiliarą paciento mėginiu arba Afinion™ CRP kontrolę ir įdėkite kapiliarą į mėgintuvėlį su R1/Skiedimo skysčiu. Uždarykite mėgintuvėlį ir gerai išmaišykite apie 10 sek.

Pastaba! Venkite burbulų susidarymo kapiliare ir mėginio pertekliaus kapiliaro išorėje.

2 Pridėkite mėginį

Įlašinkite 50 µL praskiesto mėginio ar praskiestos Afinion™ CRP kontrolės į TD/Testavimo įrenginį. Leiskite mėginiui susigerti į membraną (apie 30 sek.).

Pastaba! Venkite burbulų susidarymo ant membranos. Nelieskite membranos pipetės antgaliu.

3 Įlašinkite R2/konjugatą

Įlašinkite vieną lašą R2/konjugato į TD/Tyrimo įrenginį. Leiskite reagentui įsigerti į membraną (apie 30 sek.).

Pastaba! Lašinimo buteliuką reikia laikyti vertikaliai, apie 1 cm atstumu virš membranos.

4 Įlašinkite R3/Plovimo tirpalą

Įlašinkite vieną lašą R3/Plovimo tirpalo į TD/Tyrimo įrenginį. Leiskite reagentui įsigerti į membraną (apie 20 sek.).

Pastaba! Lašinimo buteliuką reikia laikyti vertikaliai, apie 1 cm atstumu virš membranos.

5 Nuskaitykite rezultatus

Nuskaitykite rezultatus 5 minučių bėgyje su NycoCard™ READER II. Laikykitės READER II naudotojo vadovo nurodymų.

Pastaba! Naudokite "CRP Whole Blood" ("CRB pilnas kraujas") meniu pilno kraujo mėginių rezultatams nuskaityti, ir "CRP Serum/Plasma" ("CRB serumas/plazma") meniu serumo ar plazmos mėginių ir Afinion™ CRP kontrolės rezultatams nuskaityti.

REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Hematokrito įtaka

NycoCard™ READER II "CRP Whole Blood" ("CRB pilnas kraujas") meniu sukalibruotas nuskaityti serumo CRB koncentraciją kraujo mėginyje, kurio hematokrito vertė 40%. Jei realios hematokrito vertės nukrypsta nuo 40%, rezultatus reikia koreguoti dauginant iš lentelėje nurodytų atitinkamų faktorių:

Hct%	Faktorius	Hct%	Faktorius
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

Hematokrito referentiniai dydžiai:

Moterims: 35-44%. Vyrams: 39-48%.

NEATITIKIMŲ ŠALINIMAS

Problema	Galima priežastis	Koregavimo veiksmas
Netikėtai žemi rezultatai	Netinkamas mėginio tūris	Pakartokite tyrimą. Įsitikinkite, kad kapiliaras yra pilnai pripildytas. Venkite oro burbulų susidarymo.
	Netinkamas praskiesto mėginio tūris	Patikrinkite pipetę (pakeiskite „Mini-Pet“ kartą per metus). Įsitikinkite, kad pipetės antgaliai tinkamai užsideda ant pipetės. Pakartokite tyrimą.
	Per didelis laiko tarpas (> 2 min.) tarp 2 ir 3 žingsnių.	Pakartokite tyrimą. Žingsnius nuo 2 iki 4 reikia atlikti be pertraukų.
Netikėtai aukšti rezultatai.	Labai didelis leukocitų skaičius (> 40x10 ⁹ /L) gali sąlygoti praskiesto mėginio drumstumas. Laikas, per kurį mėginys susigeria į tyrimo įrenginį padidės dėl dalinai užsikimšusios membranos.	Praskiestą mėginį centrifuguokite. Pakartokite tyrimą. Alternatyvai naudokite serumą ar plazmą.
	Netinkamas mėginio tūris	Pakartokite tyrimą. Venkite mėginio pertekliaus kapiliaro išorėje.
	Netinkamas praskiesto mėginio tūris	Patikrinkite pipetę (pakeiskite „Mini-Pet“ kartą per metus). Įsitikinkite, kad pipetės antgaliai tinkamai užsideda ant pipetės. Pakartokite tyrimą.
	Reagentas pridėtas į TD/Tyrimo įrenginį prieš tai lašintam reagentui ne visiškai susigėrus į membraną.	Pakartokite tyrimą. Įsitikinkite, kad kiekvienas reagentas visiškai susigėrė į membraną prieš lašinant kitą reagentą.
	Per didelis laiko tarpas (> 2 min.) tarp 3 ir 4 žingsnių.	Pakartokite tyrimą. Žingsnius nuo 2 iki 4 reikia atlikti be pertraukų.