

Cistatinas C



Cistatino C imunotyrimo atlikimo naudojant „Beckman Coulter® IMMAGE® 800“ SISTEMAS pastabos

Cistatino C reagentų rinkinio A52761 ir IMMAGE naudotojo apibrėžtų reagentų kasečių naudojimas

Numatytoji paskirtis

Cistatino C imunotyrimas, atliekamas su „Beckman Coulter® IMMAGE®“ sistemomis, yra *in vitro* diagnostinis tyrimas, skirtas cistatino C kiekiui žmogaus serume ir plazmoje nustatyti. Cistatino C tyrimas naudojamas inkstų ligų diagnostikai ir gydymui.

Tyrimo santrauka ir paaiškinimas

Tolygų kiekį neglikolizinto bazinio baltymo cistatino C (molekulinė masė – 13,2 kD) gamina beveik visos branduolį turinčios žmogaus organizmo ląstelės [1]. Jis laisvai pereina per normalios glomerulų bazinės membranos filtrą, paskui rezorbuojamas į artimuosius kanalėlius, kur beveik visiškai katabolizuojamas. Taigi, cistatino C koncentracija žmogaus kraujyje labai susijusi su glomerulų filtracijos greičiu (GFG) [2]. Sumažėjus GFG, cistatino C koncentracija pakyla. Nenustatyta, kad kiti veiksniai, pvz., raumenų masė, uždegiminės ligos, lytis, amžius ar maistas, turėtų reikšmingos įtakos cistatino C koncentracijai [2, 3, 4].

Kalibratoriaus norminimas

„Gentian“ cistatino C kalibratorius sunormintas pagal tarptautinį kalibravimo standartą ERM-DA471/IFCC.

Prognozuojamojo GFG skaičiavimas

Mokslinėje literatūroje paskelbtos kelios GFG skaičiavimo pagal cistatiną C formulės suaugusiems ir vaikams. Reikia atkreipti dėmesį, kad šios formulės buvo įvertintos atliekant skirtingus cistatino C tyrimus (dalelių sustiprintą nefelometrinių imunoanalizę, angl. „particle-enhanced nephelometric immunoassay“ – PENIA arba dalelių sustiprintą turbidimetrinę imunoanalizę angl. „particle enhanced turbidimetric immunoassay“ – PETIA) ir, jei bus naudojamas netinkamas formulės ir tyrimo derinys, gali būti gauti netikslūs GFG rezultatai. Pagal cistatino C reikšmes, nustatytas atlikus „Gentian“ tyrimą, GFG rekomenduojama skaičiuoti pagal toliau nurodytą prognozuojamąją formulę, matavimo vienetu naudojant mg/l [5]: Formulė tinka vyresniems nei 14 metų asmenims.

$$\text{GFR [mL/min/1,73 m}^2\text{]} = \frac{79,901}{\text{Cistatinas C (mg/L)}^{1,4389}}$$

Tyrimo principas

Žmogaus serumo arba plazmos mėginys sumaišomi su cistatino C imunodalelėmis. Mėginyje esantis cistatinas C jungiasi su ant imunodalelių esančiu antikūnu prieš cistatiną C. Susidariusios kompleksinės dalelės sugeria šviesą. Ši sugertis išmatuojama turbidimetrijos būdu ir pagal nustatytą etaloninę kalibravimo kreivę susiejama su cistatino C koncentracija. Rezultatus IMMAGE® platformos apskaičiuoja automatiškai.

Reagentų rinkinyje pateikiami reagentai

Reakcijos buferis 1 (R1)

Cistatino C reakcijos buferis, 1 flakonai, kurio tūris 100 ml. R1 – tai MOPS [3-(N-morfolin)-propano sulfonine rūgštimi] buferintas fiziologinis tirpalas, konservuotas natrio azidais (0,09 % (pagal masės ir tūrio santykį). Buferis paruoštas naudoti.

Reakcijos buferis 2 (R2)

Cistatino C imunodalelės, 2 flakonai po 10 ml. R2 sudėtyje yra imunodalelių, kurios yra išgryninta imunoglobulinų, kurių taikymas – cistatinas C ir kurie kovalentinėmis jungtimis prisitvirtinę prie vienodų polistireno dalelių, frakcija. Gaminant imunodaleles, kaip imunogenas buvo naudojamas žmonių cistatinas C. Jis pateikiamas kaip paruošta naudoti suspensija, konservuota 0,09 % (pagal masės ir tūrio santykį) natrio azidu ir antibiotikais.

| Priemonės, įtrauktos į CYSX IMMAGE pardavimo grupę REF B69746: | |
|---|------------|
| „Gentian“ cistatino C reagentų rinkinys | REF A52761 |
| Naudotojo apibrėžta reagentų kasetė (10 pakuočių) | REF 447250 |
| Garinimo dangteliai (20 pakuočių) | REF 447170 |
| Reikalingos, bet nepridedamos priemonės: | |
| „Gentian“ cistatino C kalibratorių rinkinys (6 x 1 ml) | REF A52763 |
| „Gentian“ cistatino C kontrolių rinkinys, mažos ir didelės koncentracijos (2 po 1 ml) | REF A52765 |

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

- Šis tyrimas skirtas tik *in vitro* diagnostikai ir jį naudoti gali tik kvalifikuoti darbuotojai.
- Reagentuose yra antibiotikų ir su jais elgtis reikia atsargiai.
- Reagentuose yra antibiotikų ir su jais elgtis reikia atsargiai: nenuryti ir saugotis sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Šiame preparate esančio natrio azido koncentracija nelaiminga pavojinga. Tačiau šviniuose ir variniuose vamzdžiuose susikaupęs NaN₃ gali sudaryti sprogus metalų azidus. Siekiant to išvengti, į kanalizaciją išpiltus reagentus reikia nuplauti dideliu kiekiu vandens.
- Šiame preparate yra gyvūnų kilmės medžiagų. Atliekas reikia išmesti pagal vietinius reikalavimus.
- Kalibratorių ir kontrolių gamybai naudotas serumas buvo ištirtas, siekiant nustatyti HBsAG hepatito, antikūnų prieš HCV, prieš ŽIV-1 ir prieš ŽIV-2 buvimą, ir gautas neigiamas rezultatas. Tačiau šiose priemonėse yra žmonių ir gyvūnų kilmės medžiagų, todėl su jais reikia elgtis atsargiai. Atliekas reikia išmesti pagal vietinius reikalavimus.

Reagentų laikymas ir stabilumas

Neatidarytų reagentų tinkamumo laikas laikant 2–8 °C temperatūroje: žr. tinkamumo datą ant etiketės. Stabilumas po atidarymo: iki tinkamumo datos, kai naudojami kieti dangteliai, laikant 2–8 °C. Naudojimo stabilumas: 28 dienos, kai naudojami garinimo dangteliai.

Mėginio ėmimas ir tvarkymas

Tyrimui reikia žmogaus serumo arba plazmos su EDTA / heparinu. Rekomenduojama mėginius analizuoti kuo greičiau po paėmimo. Tačiau mėginių stabilumo tyrimas parodė, kad cistatinas C serumo ir plazmos mėginiuose išlieka stabilus 26 dienas laikant kambario temperatūroje (8–25 °C) arba 26 dienas laikant 2–8 °C temperatūroje. Be to, mokslinėje literatūroje paskelbta, kad mėginius žemesnėje nei –70 °C temperatūroje galima laikyti iki 5 metų [6]. Prieš analizuojant mėginius reikia gerai sumaišyti.

*Registruotasis „Beckman Coulter® Inc.“, Brea, CA 92821 prekių ženklas

Tyrimo procedūra

Atlikimo pastabos ir tyrimo parametrai

Išsamus analizatoriaus parametų sąrašas pateiktas toliau esančiame skyriuje „Analizatoriaus parametrai“. Atlikimo pastabas taip pat rasite www.gentian.com. Kaip nustatyti analizatoriaus parametrus, atlikti jo priežiūrą, dirbti su juo ir kokių atsargumo priemonių laikytis nurodyta „Beckman Coulter® IMMAGE®“ analizatorių vadovuose, kuriais reikia vadovautis.

Reagentų ruošimas

Reagentai tiekiami jau paruošti perpilti į IMMAGE reagentų kasetę. Perpilkite 1 reagento ir 2 reagento turinį į atitinkamus naudotojo apibrėžtos kasetės skyrius, kaip parodyta tolesnėje lentelėje, ir, kai naudojate, uždėkite garinimo dangtelius. Būkite atsargūs, kad neužterštumėte. Nenaudojamus reagentus reikia laikyti uždarytus originaliais kietais dangteliais 2–8 °C temperatūroje.

| Cistatino C rinkinys | A skyrius | B skyrius |
|---------------------------------|-----------|-----------|
| R1, reagento buferinis tirpalas | - | 8,5 ml |
| R2, imunodalelės | 1,5 ml | - |

Kalibravimo kreivės sudarymas

6 taškų etaloninei kreivei sudaryti naudokite etalonus nuo 1 iki 6, kaip nurodyta „Beckman Coulter® IMMAGE®“ sistemų analizatorių vadovuose. Kalibratoriaus reikšmės priklauso nuo partijos; naudojant naujos partijos kalibratorių reikia sukalibruoti analizatorių iš naujo. Skirtosios kalibratoriaus reikšmės pateiktos analizės reikšmių lape, pateikiamame kartu su kalibratoriumi. Iš naujo sukalibruoti reikia kas 4 savaites.

Kokybės kontrolės

Siekiant įvertinti kalibravimo kreivės galiojimą, kasdien prieš analizuojant mėginius reikia iširti didelės ir mažos koncentracijos kontroles. Kontrolėms priskirtas reikšmių intervalas, kurį turi atitikti jų tyrimo rezultatai – tik tada galima tirti mėginius. Skirtosios reikšmės pateiktos analizės reikšmių lape, pateikiamame kartu su „Gentian“ cistatino C kontrolių rinkiniu. Jeigu gavote negaliojančių kontrolių tyrimo rezultatus, pakartokite kontrolių tyrimą. Jeigu nepavyksta sukalibruoti be klaidų arba nepavyksta atkurti gautų galiojančių reikšmių, kreipkitės pagalbos į „Beckman Coulter®“.

Pacientų mėginių tyrimas

Gavus galiojančius kalibravimo rezultatus ir kontrolių tyrimo reikšmes, patenkančias į galiojantį intervalą, galima tirti serumo arba plazmos mėginius. Patikrinkite, ar mėginio tūris ne mažesnis už minimalų ir išanalizuokite mėginius pagal instrukcijas, pateiktas „Beckman Coulter® IMMAGE®“ sistemų analizatorių vadovuose.

Rezultatai

„Beckman Coulter® IMMAGE®“ sistemos rezultatus apskaičiuoja automatiškai. Rezultatai išreikšti mg/L.

Apribojimai

Pasibaigus tinkamumo laikui medžiagų naudoti negalima.

Matavimo intervalas

Cistatino C analizės matavimo intervalas – maždaug 0,4–8,0 mg/l. Konkretus intervalas priklauso nuo „Gentian“ cistatino C kalibratorių rinkinio partijos numerio kalibratoriaus nustatymo taškų.

Atskaitos intervalai

Nustatydamas etaloninio intervalo perkeliamumą „Gentian“ vadovaujasi CLSI (Klinikinių ir laboratorinių standartų instituto) gairėmis, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* (Kaip apibrėžti ir nustatyti atskaitos intervalus klinikinėje laboratorijoje; patvirtintos gairės, antras leidimas). Atskaitos intervalas nustatytas atlikus atskaitos intervalo studiją Vekšes miesto ligoninėje, Švedijoje, kur buvo iširti 136 save laikančių sveikais asmenų, kurių amžius 20–80 metų, serumo mėginiai. Mėginiuose buvo ieškoma cistatino C, tyrimą atliekant „AU 2700“ platforma. Atskaitos intervalas buvo apskaičiuotas neparametriškai ir buvo nustatytas 0,53–1,01 mg/l intervalas. Tai atstovauja 95 % visos iširtos populiacijos. Kiekvienai laboratorijai rekomenduojama nustatyti vietinį atskaitos intervalą, nes reikšmės gali skirtis atsižvelgiant tiriamąją gyventojų grupę.

Efektyvumo charakteristikos

Tyrimai buvo atlikti naudojant vieną partiją reagentų vienoje laboratorijoje, nebent nurodyta kitaip.

Tikslumas

„Gentian“ cistatino C imunoanalizė buvo naudojama 3 dienų tikslumo studijoje, kurios struktūra atitiko CLSI protokolą EP5-A. „Beckman Coulter® IMMAGE 800“ sistema buvo iširti keturi serumo mėginiai ir 2 kontrolės lygiai.

| ID | Vidutinė vertė (mg/L) | NK (nuokrypio koeficientas) (%) viename cikle | Bendrasis NK (%) | Kiekis |
|----|-----------------------|---|------------------|--------|
| P1 | 0,72 | 1,71 | 3,86 | 10 |
| P2 | 0,62 | 2,35 | 5,59 | 10 |
| P3 | 0,67 | 3,74 | 3,76 | 10 |
| P4 | 0,96 | 1,63 | 3,10 | 10 |
| P5 | 0,82 | 2,14 | 6,78 | 10 |
| P6 | 2,54 | 0,67 | 3,84 | 10 |

Tiesiškumas

„Gentian“ cistatino C imunityrimas buvo naudojamas tiesinėje analizėje naudojant IMMAGE 800 sistemą, buvo nustatytas 0,35–6,79 mg/l tiesinis intervalas. Į intervalą nepatenkančios koncentracijos nebuvo tirtos.

Analizės rezultatų atkuriamumas

„Gentian“ cistatino C imunityrimą atliekant su „Beckman Coulter® IMMAGE 800“ analizatoriumi, buvo nustatytas 100–110 % atkuriamumas.

Kiekio nustatymo riba

Kiekio nustatymo riba yra mažiausias faktinis analizės kiekis, kurį galima patikimai aptikti ir prie kurio suminė paklaida atitinka tikslumo reikalavimus.

„Gentian“ cistatino C analizę atliekant „IMMAGE 800“ analizatoriumi, buvo išmatuota apatinė kiekio nustatymo riba – 0,24 mg/l.

Saugumo zona

„Gentian“ cistatino C analizės studiją atlikus „IMMAGE 800“ analizatoriumi nustatyta saugi sritis, kurioje nepasireiškia prozonozės efektas, kai antigenų perviršio koncentracija būna iki 43 mg/l.

Neigiama sąveika

Atliekant studiją reikšmingos neigiamos sąveikos su hemoglobinu (8 g/l), intralipidais (16 g/l) arba bilirubinu (800 mg/l) cistatino C mėginiuose nenustatyta. Neigiamos sąveikos studijos struktūra atitiko CLSI protokolą EP7-A [7]. Taip pat nebuvo nustatyta reikšmingos neigiamos sąveikos su medikamentais, iširtais pagal Sonntag ir Scholer publikaciją [8]. „Gentian“ cistatino C imunoanalizei neigiama sąveika su reumatoidiniu veiksniu nebūdinga, nes naudojami iš paukščių (vištų) antikūnų pagaminti antikūnai [9].

Kintamumas naudojant skirtingus analizatorius

Kintamumas atliekant „Gentian“ cistatino C tyrimą IMMAGE ir „Hitachi 917“ analizatoriais išmatuotas ir rezultatai išanalizuoti pagal Passing-Bablok regresijos formulę:

| Metodai | Mėginio Kiekis intervalas (mg/L) | Sąlyga | Koeficientas | Koeficiento 95 % CI |
|------------------------------|----------------------------------|----------------------|--------------|------------------------|
| IMMAGE 800 vs. „Hitachi 917“ | 24 0,58–6,97 | Sankirta Nuolydis | 0,08 1,01 | 0,05–0,11 0,99–1,03 |

*Registruotieji „Beckman Coulter® Inc.“, Brea, CA 92821 prekių ženklai

Papildoma informacija

Daugiau išsamios informacijos apie IMMAGE® sistemas žr. atitinkamos sistemos vadove. „Beckman Coulter®“ negamina reagentų ir neatlieka atskirų jų partijų kokybės kontrolės ar kitų bandymų, todėl „Beckman Coulter®“ negali būti laikoma atsakinga už gautų duomenų kokybę, kai jai įtakos turi reagentų veiksmingumas, skirtumai atsižvelgiant į reagento partiją arba jų gamintojų atlikti protokolo pakeitimai.

Pažeidimai gabenant

Praneškite platintojui, jeigu gavote pažeistą gaminį. Jeigu reikia techninės pagalbos, kreipkitės į vietinį „Beckman Coulter®“ atstovą. Kitomis kalbomis žr.: <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

Simbolių paaiškinimas



Partijos numeris



Temperatūros riba



Naudoti iki nurodytos datos



Žr. naudojimo instrukcijas



Gamintojas



Katalogo numeris



In vitro diagnostikos medicinos prietaisas



Dėmesio



Biologinis pavojus



Gentian AS CE

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norway (Norvegija)

TEL. +47 99 33 99 05

FAKS. +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.com>

Literatūros sąrašas

1. Abrahamson M et al: Biochem J 1990;268:287-94.
2. Laterza OF et al: Clin Chem 2002;48:63-99.
3. Grubb AO. Adv Clin Chem 2000;35:63-99.
4. Filler G et al: Clin Biochem 2005 ;38 :1-8.
5. Flodin M et al: Scand J Clin Lab Invest 2007;67:560-567
6. Shlipak M.G, et al: Clinical Chemistry 57: 737-745, 2011
7. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
8. Sonntag O, Scholer A: Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
9. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.

Cistatino C imunotyrimo, atliekamo su „Beckman Coulter® IMMAGE“ sistemomis* (IMMAGE 800), analizatoriaus parametrai

1 psl.

Tyrimo pavadinimas: cysx

Matavimo vienetas: mg/L

Reagentų partijos numeris:*

Protokolas: Nekonkurencinga NIPIA

Kasetės numeris: **

Reagento tinkamumo data:*

Reagento serijos numeris: **

Tyrimų sk. partijoje: 40

AGXS riba:

AGXS jungta:

2 psl.

Buferinis tirpalas: BUF10

Skiediklis: DIL10

Mėginio tūris: 5 µl

Kalibratoriaus skiedimas: 1:1

Reakcijos buferinio tirpalo tūris: 0 µl

Mėginio skiedimas: 1:1

A reagento tūris: 30 µl

Reakcijos laikas: 5 minutės

B reagento tūris: 195 µl

3 psl.

Lygiai: 6

Kalibratoriaus lygis:

1 lygis:*

Replikavimai: 2

2 lygis:*

Lygio naujinimas: 3

3 lygis:*

Replikavimai: 2

4 lygis:*

Kalibravimo tipas: trečiojo laipsnio polinomas

5 lygis:*

6 lygis:*

Nuolydis ir nuokrypis (dalyje „Reagentai ir kalibravimas“)

Faktorius a (a·x + b) : 1,10

Išpilkite „Gentian“ cistatino C tyrimo buferinį tirpalą į B skyrių ir „Gentian“ cistatino C imunodaleles į A skyrių. Maksimalus UDR kasetės skyrių A ir B tūris yra 8,5 ml. Todėl maksimalus tyrimų, įkeltų į kasetę, skaičius yra apie 40 tyrimų.

*Priklauso nuo partijos

**Naudotojo apibrėžtas