

Cistatinas C

Cistatino C imunoanalizės, skirtos „Beckman Coulter®“ sistemoms IMMAGE®800, atlikimo nuorodos

Naudojant „Gentian“ cistatino C reagentų rinkinį A52761 ir IMMAGE naudotojo komplektuojamas reagentų kasetes

Numatytoji paskirtis

Cistatino C imunoanalizė, atliekama „Beckman Coulter®“ IMMAGE® serijos sistemomis, – tai *in vitro* diagnostikos tyrimas, skirtas cistatino C kiekiui žmonių serume ir plazmoje nustatyti. Cistatino C rodmuo naudojamas inkstų ligų diagnostikai ir gydymui.

Tyrimo santrauka ir aiškinimas

Tolygų kiekį neglikolizinto bazinio baltymo cistatino C (molekulinė masė – 13,2 kD) gamina praktiškai visos branduolį turinčios žmogaus organizmo ląstelės [1]. Jis laisvai pereina per normalios glomerulų bazinės membranos filtrą, paskui rezorbuojamas į artimuosius kanalėlius, kur beveik pilnutinai katabolizuojamas. Taigi, cistatino C koncentracija žmogaus organizme labai susijusi su glomerulų filtracijos greičiu (GFG, angl. GFR) [2]. Sumažėjus GFG, cistatino C koncentracija pakyla. Nustatyta, kad kiti veiksniai (kaip antai raumenų masė, uždegiminės ligos, lytis, amžius arba mitybos ypatumai) cistatino C koncentracijai reikšmingos įtakos neturi [2, 3, 4].

Kalibratoriaus norminimas

„Gentian“ cistatino C tyrimo 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 įvertintos su skirtingais cistatino C tyrimais (atliekant dalelių sustiprintą nefelometrinių imunoanalizę, angl. *Particle-Enhanced Nephelometric Immuno-Assay*, PENIA, arba dalelių sustiprintą turbidimetrinę imunoanalizę, angl. *Particle-Enhanced Turbidimetric Immuno-Assay*, PETIA) ir, skaičiuojant pagal netinkamam tyrimui sudarytą formulę, galima gauti netikslus GFG rezultatus. Pagal cistatino C vertes, nustatytas atlikus „Gentian“ tyrimą, GFG patartina skaičiuoti pagal toliau nurodytą prognozuojamąją formulę, kai matavimo vienetai – mg/l [5]:
Lygtis tinka vyresniems nei 14 metų asmenims.

$$\text{GFG [ml/min/1,73 m}^2\text{]} = \frac{79,901}{\text{cistatinas C (mg/l)}^{1,4389}}$$

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 tiekiami 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, kurių tūris 10 ml. R2 turi imunodalelių – išgrynintą frakciją imunoglobulinų, kurių taikyns – cistatinas C ir kurie kovalentinėmis jungtimis prisitvirtinę prie vienodų polistireno dalelių. Gaminant imunodaleles kaip imunogenas buvo naudojamas žmonių cistatinas C. Jis tiekiamas paruoštos naudoti suspensijos pavidalu, konservuotas 0,09 % (pagal masės ir tūrio santykį) natrio azidu ir antibiotikais.

Prekių komplekte CYSX IMMAGE esančios priemonės, REF B69746:	
„Gentian“ cistatino C reagentų rinkinys	REF A52761
Naudotojo komplektuojama reagentų kasetė (10 vnt. pakuotė)	REF 447250
Apsaugos nuo garavimo dangteliai (20 vnt pakuotė)	REF 447170
Reikalingos priemonės (rinkinyje nėra)	
„Gentian“ cistatino C kalibravimo rinkinys (6 x 1 ml)	REF A52763
„Gentian“ cistatino C kontrolės medžiagų rinkinys, mažos ir didelės koncentracijos (2 x 1 ml)	REF A52765

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

- Šis tyrimas skirtas tik *in vitro* diagnostikai ir su juo dirbti gali tik atitinkamos kvalifikacijos darbuotojai.
- Reagentuose yra antibiotikų ir su jais elgtis reikia atsargiai.
- Reagentuose yra konservanto natrio azido ir su jais elgtis reikia atsargiai. Negalima nuryti ir saugotis sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Šiame preparate esančio natrio azido koncentracija nelaikoma pavojinga, tačiau šviniuose ir variniuose vamzdžiuose susikaupęs NaN_3 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 naikinti pagal vietos reikalavimus.
- Kalibratorių ir kontrolės medžiagų gamybai naudotas serumas buvo iširtas, siekiant nustatyti HBSAG, antikūnų prieš HCV, prieš ŽIV-1 ir prieš ŽIV-2 buvimą bei gautas neigiamas rezultatas, tačiau šiose priemonėse yra žmonių ir gyvūnų kilmės medžiagų, todėl su jais reikia elgtis atsargiai. Atliekas reikia naikinti pagal vietos 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, jeigu naudojami kieti dangteliai ir laikoma 2–8 °C temperatūroje. Stabilumas naudojant – 28 dienos, jeigu naudojami apsaugos nuo garavimo dangteliai. Preparatų, kurių tinkamumo data nurodyta metų ir mėnesio formatu, tinkamumo laikas baigiasi paskutinę nurodyto mėnesio dieną.

Tyrinio 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 –20 °C temperatūroje galima laikyti iki 10 metų [6]. Prieš analizuojant mėginius reikia sumaišyti.

Tyrimo procedūra

Atlikimo pastabos ir tyrimo parametrai

Išsamus analizatoriaus parametų sąrašas pateiktas toliau esančiame skyriuje „Analizatoriaus parametrai“. Naudojimo pastabos taip pat pateiktos interneto svetainėje www.gentian.no. Kaip nustatyti analizatoriaus parametrus, atlikti jo priežiūrą, dirbti su juo ir kokių atsargumo priemonių laikytis nurodyta „Beckman Coulter“[®] IMMAGE[®] serijos analizatorių vadovuose, kuriais reikia vadovautis.

Reagentų ruošimas

Reagentai tiekiami paruošti perkelti į IMMAGE reagentų kasetę. Perpilkite reagento 1 ir reagento 2 flakonų turinį į atitinkamus naudotojo komplektuojamos kasetės skyrius, kaip nurodyta lentelėje toliau, ir jeigu naudojate, uždenkite apsaugos nuo garavimo dangtelius. Imkitės priemonių užteršimui išvengti. Nenaudojamus reagentus reikia laikyti uždarytus originaliais kietaisiais dangteliais 2–8 °C temperatūroje.

Cistatino C rinkinys	Skyrius A	Skyrius B
R1, reagento buferis	–	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[®] serijos sistemų analizatorių vadovuose. Kalibratoriaus vertės priklauso nuo serijos; naudojant naujos serijos kalibratorių reikia sukalibruoti analizatorių iš naujo. Skirtosios kalibratoriaus vertės pateiktos verčių analizės lape, tiekiamame kartu su kalibratoriumi. Iš naujo sukalibruoti reikia kas 4 savaites.

Kokybės kontrolės medžiagos

Siekiant įvertinti kalibravimo kreivės galiojimą, didelės ir mažos koncentracijos kontrolės medžiagas reikia ištirti kasdien prieš analizuojant mėginius. Kontrolės medžiagoms priskirtas verčių diapazonas, kurį turi atitikti jų tyrimo rezultatai; tik tada galima tirti mėginius. Skirtosios vertės pateiktos verčių analizės lape, tiekiamame kartu su „Gentian“ cistatino C kontrolės medžiagų rinkiniu. Jeigu gavote negaliojančius kontrolės medžiagų tyrimo rezultatus, pakartokite kontrolės medžiagų tyrimą. Jeigu nepavyksta sukalibruoti analizatoriaus be klaidų arba nepavyksta atkurti gautų galiojančių verčių, kreipkitės pagalbos į „Beckman Coulter“[®].

Pacientų mėginių tyrimas

Gavus galiojančius kalibravimo rezultatus ir kontrolės medžiagų tyrimo vertes galiojančiame diapazone, galima tirti serumo arba plazmos mėginius. Patikrinkite, ar mėginio tūris ne mažesnis už minimalų ir išanalizuokite mėginius pagal instrukcijas, pateiktas „Beckman Coulter“[®] IMMAGE[®] serijos sistemų analizatorių vadovuose.

Rezultatai

„Beckman Coulter“[®] IMMAGE[®] serijos sistemos rezultatus apskaičiuoja automatiškai. Rezultatai išreikšti mg/l.

Apribojimai

Pasibaigus tinkamumo laikui medžiagų naudoti negalima.

Matavimo diapazonas

Cistatino C analizės matavimo diapazonas – maždaug 0,4–8,0 mg/l. Tikslus diapazonas nurodomas atsižvelgiant į atitinkamo „Gentian“ cistatino C kalibravimo rinkinio serijos numerio nustatytuosius kalibravimo taškus.

Atskaitos intervalai

Atskaitos intervalo perkeliavimui nustatyti „Gentian“ vadovaujasi CLSI gairėmis C28–A2 *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* („Kaip numatyti ir nustatyti atskaitos intervalus klinikinėje laboratorijoje“, patvirtintosios gairės, antroji laida). Atskaitos intervalas nustatytas atlikus atskaitos intervalo studiją Växjö miesto ligoninėje Švedijoje, kur buvo ištirti 138 asmenų, save įvertinusių kaip sveikus, kurių amžius 20–80 metų, mėginiai. Mėginiuose buvo ieškoma cistatino C tyrimą atliekant AU 2700 platforma. Neparimetriniu būdu apskaičiuotas 0,53–1,01 mg/l atskaitos intervalas, atitinkantis 95-ąją visos ištirtos gyventojų grupės procentilį. Kiekvienai laboratorijai patartina nustatyti vietos atskaitos intervalą, nes vertės gali skirtis atsižvelgiant į tiriamąją gyventojų grupę.

Atskiroje studijoje, kurioje dalyvavo 850 sveikų vaikų (46 % berniukų, 54 % mergaičių), kurių amžius nuo 5 iki 15 metų, visoms amžių grupėms nuo 5 metų amžiaus patvirtintas 0,51–1,05 mg/l atskaitos diapazonas [7].

Funkcionalumo charakteristikos

Visų studijų tyrimai atlikti vienoje laboratorijoje ir naudojant vienos serijos „Gentian“ cistatino C reagentus (jeigu nenurodyta kitaip).

Tikslumas

„Gentian“ cistatino C imunoanalizė buvo naudojama 3 dienų tikslumo studijoje, kurios struktūra atitiko CLSI protokolą EP5-A. Keturi jungtiniai serumai ir 2 lygių kontrolės medžiagos ištirtos „Beckman Coulter“[®] sistema IMMAGE 800*.

ID	Vidutinė vertė (mg/l)	VK viename cikle (%)	Bendrasis KK (%)	N
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 imunoanalizę naudojant tiesiškumo studijoje ir tyrimus atliekant sistema IMMAGE 800 nustatyta, kad rezultatai tiesiškai kinta verčių diapazone nuo 0,35 iki 6,79 mg/l. Koncentracijos už šio diapazono ribų tyrimos nebuvo.

Analizės rezultatų atkuriamumas

„Gentian“ cistatino C imunoanalizę atliekant „Beckman Coulter“[®] analizatoriumi IMMAGE 800 nustatytas 100–110 % atkuriamumas.

Kiekio nustatymo riba

„Gentian“ cistatino C analizę atliekant analizatoriumi IMMAGE 800 nustatytas žemiausias 0,24 mg/l analizės kiekis.

Saugioji sritis

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

Neigiama sąveika

Studijoje reikšmingos 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 [8]. Taip pat nebuvo nustatyta neigiamos sąveikos su medikamentais, ištirtais pagal O. Sonntag ir A. Scholer publikaciją [9]. „Gentian“ cistatino C imunoanalizei neigiama sąveika su reumatoidiniu veiksmu nebūdinga, nes naudojami iš paukščių (vištų) antikūnų pagaminti antikūnai [10].

Kintamumas tyrimą atliekant skirtingais analizatoriais

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

Metodai	N	Tyrinių rezultatų diapazonas (mg/dl)	Terminas	Koeficientas	Koeficiento 95 % PI
IMMAGE 800 plg. su Hitachi 917	24	0,58–6,97	Sankirta	0,08	0,05–0,11
			Nuolydis	1,01	0,99–1,03

Papildoma informacija

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

Gabenimo pažeidimai

Informuokite mūsų platintoją, jeigu gavote pažeistą gaminį. Jeigu reikia techninės pagalbos, kreipkitės į vietos „Beckman Coulter®“ atstovybę.

Informaciją kitomis kalbomis galite rasti:

<http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

Simbolių reikšmės



Partijos numeris



Temperatūros diapazonas



Tinka naudoti iki



Vadovaukitės naudojimo instrukcija



Gamintojas



Katalogo numeris



In vitro diagnostikos medicinos priemonė



Atsargiai



Biologinis pavojus



Gentian AS

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norvegija

TEL.: (+47) 99 33 99 05

FAKS.: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

Literatūra

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. Nitsch D. et al: The Uppsala Family Stud. Am J Kidney Dis. 2011;57(6):863-872
8. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.

Analizatoriaus nuostačiai cistatino C imunoanalizę atliekant „Beckman Coulter®“ sistemomis IMMAGE* (IMMAGE 800)

1 psl.:

Testo pavadinimas: cvsx

Matavimo vnt.: mg/l

Reagento serijos numeris: *

Protokolas: Nekonkurencinis NIPIA

Kasetės numeris: **

Reagento tinkamumo data: *

Reagento serijos numeris: **

Testų, atliekamų su vienos serijos reagentais, skaičius 40

AGXS riba:

AGXS veiksmi:

2 psl.:

Bufėris: BUF10

Skiediklis: DIL10

Mėginio tūris: 5 µl

Kalibratoriaus skiedimas: 1:1

Reakcijų buferio tūris: 0 µl

Mėginio skiedimas: 1:1

Reagento A tūris: 30 µl

Reakcijos laikas: 5 minutės

Reagento B tūris: 195 µl

3 psl.:

Lygiai: 6

Kalibratoriaus lygis

1 lygis: *

Kartotiniai: 2

2 lygis: *

Lygio naujinimas: 3

3 lygis: *

Kartotiniai: 2

4 lygis: *

Kalibravimo tipas: 3. laipsnio daugianario

5 lygis: *

6 lygis: *

Nuolydis ir poslinkis (skyriuje „Reagentas ir kalibravimas“)

Veiksny a (a·x + b) : 1,10

Supilkite „Gentian“ cistatino C analizės buferį į skyrių B, o „Gentian“ cistatino C imunodaleles į skyrių A. Maksimalus UDR kasetės skyrių A ir B tūris – 8,5 ml, tad su viena pripildyta kasete galima atlikti maždaug 40 testų.

* Priklauso nuo serijos

** Komplektuoja naudotojas