

Инструкция и адаптационная методика по применению набора «Цистатин С»

Клиническое значение:

Цистатин С – это низкомолекулярный (13 кДа) цитоплазматический белок, является ингибитором протеаз цистеина. Цистатин С образуется с постоянной скоростью и выводится из кровообращения путем клубочковой фильтрации. Этот белок полностью абсорбируется в почечных канальцах и разрушается там.

При нарушении в почечных канальцах концентрация цистатина С в крови повышается в 2-5 раз по сравнению с нормальными значениями. В отличие от креатинина, концентрация цистатина С не зависит от пола, возраста, и питания. Многочисленные исследования показывают, что уровень цистатина С гораздо более информативен, чем креатинин при оценке скорости клубочковой фильтрации.

Диагноз не должен быть поставлен на результатах одного теста, а на совокупности клинических симптомов и других исследований.

Принцип метода:

Количественное определение цистатина С основано на реакции агглютинации между находящимися в образце цистатином С и поликлональными антителами к человеческому цистатину С, покрывающими латексные частички реагента. Степень агглютинации зависит от концентрации цистатина С в образце и вызывает пропорциональное изменение оптической плотности. Концентрация цистатина С в образце определяется фотометрически относительно калибровочной кривой.

Набор предназначен для использования на полуавтоматических и автоматических биохимических анализаторах.

Состав набора*:

Реагент 1	Реагент 2	Калибратор цистатина С	Контроль цистатина С
TRIS-буфер, pH 8.6 Консервант	TRIS-буфер, pH 8.6 Латексные частицы, покрытые поликлональными антителами к человеческому цистатину С (кролика) Консервант	Раствор рекомбинантного цистатина С в матрице человеческой сыворотки крови. 5 уровней концентраций	Раствор рекомбинантного цистатина С в матрице человеческой сыворотки крови. 2 уровня концентраций: норма и патология. Концентрация цистатина С в контролях указана на этикетке
20 мл	4 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика	
45 мл	9 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика	
90 мл	18 мл	Наличие и объем в наборе по желанию заказчика	

* - объем реагентов во флаконе и количество флаконов может варьироваться в зависимости от каталожного номера.

По желанию заказчика набор может поставляться с или без калибровочного и контрольного материала.

Подготовка реагентов к применению и их стабильность:

Запечатанные флаконы стабильны до окончания срока годности при хранении при 2-8°C (18 месяцев от даты производства).

Реагент 1 и Реагент 2, калибраторы и контроли цистатина С готовы к применению. Не перемешивать содержимое флаконов перед применением и установкой на борт анализатора. После вскрытия флакона стабильны при температуре от 2°C до 8°C в течение одного месяца. Реагенты не замораживать.

Признаки непригодности реагентов для применения:

- наличие в растворе реагента 1 мутности.

Меры предосторожности:

Реагенты, входящие в состав набора, предназначены только для диагностики *in vitro*. **Не принимать внутрь.**

Калибраторы и контроли цистатина С содержат матрицу сыворотки крови человека, которая проверена на отсутствие HBsAg, HCV, антител к ВИЧ (1/2). Однако при работе с ним необходимо обращаться как с потенциально опасными веществами.

Все компоненты в используемых концентрациях не токсичны. При работе с наборами реагентов следует применять средства индивидуальной защиты согласно ГОСТ 12.4.103. Допускаются к применению перчатки медицинские одноразовые и халаты медицинские, отвечающие действующим ТНПА Республики Беларусь и имеющие документы, подтверждающие качество и безопасность в области применения.

При работе с наборами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СНиП «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 2 от 6 января 2017 г.

Утилизация не использованных либо с истекшим сроком годности реагентов проходит в соответствии с СНиП «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №14 от 7 февраля 2018 г.

Образцы и их стабильность:

Негемолизованная и нелипемическая сыворотка или плазма крови. В качестве антикоагулянта можно использовать ЭДТА или гепарин. Если образец содержит фибрин, то его необходимо отцентрифугировать перед анализом. Образцы должны быть проанализированы сразу после взятия. Для хранения образцы должны быть герметично закрыты и помещены в контейнер с температурой минус 20°C. Повторное замораживание-размораживание образцов не допускается.

Методика для ручных и полуавтоматических анализаторов.

Необходимое, но не предоставляемое оборудование:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 546 нм и длиной оптического пути 1 см, с термостатируемым кюветным отделением;

- дозаторы с наконечниками, позволяющие отбирать 0,006 мл, 0,100 мл, 0,460 мл, 0,012 мл, 0,200 мл, 0,920 мл;

- секундомер.

Ход анализа (ручная методика):

Условия проведения анализа:

- длина волны – 546 нм;

- длина оптического пути – 1 см;

- температура - 37°C;

Анализатор обнуляют относительно дистиллированной воды.

	Макрометод	Полумикрометод
Реагент 1, мл	0,920	0,460
Калибратор, мл/ Образец, мл	0,012	0,006
Перемешивают и инкубируют 5 минут при температуре 37°C.		
Реагент 2, мл	0,200	0,100

Перемешивают и измеряют оптическую плотность (А) через 4 минуты и 30 секунд после добавления Реагента 2.

Результаты:

Концентрацию цистатина С в образце находят по калибровочной кривой. Для построения калибровочной кривой используются калибраторы 5 уровней и физиологический раствор (раствор 9 г/л хлорида натрия) в качестве нулевого калибратора. Каждый из калибровочных растворов анализируется, как описано выше.

Контроль качества:

Контроль качества измерений проводится с использованием контрольного материала двух уровней. При непрохождении контролей проводится перекалибровка. После перекалибровки следует снова протестировать контроли. В случае непрохождения контроля качества после перекалибровки, необходимо проверить исправность анализатора и наличие признаков непригодности реагентов.

Каждая лаборатория проводит контроль качества согласно своей утвержденной схеме.

Рекомендуем применять для контроля качества контрольный материал, входящий в состав набора, или контрольные сыворотки, входящие в состав набора, или производства Randox (Великобритания), Spinreact (Испания), Comay (Польша).

Референсные значения: 0,59-1,03 мг/л.

Приведенные референсные значения ориентировочные: каждая лаборатория должна сама устанавливать свои референсные значения.

Интерференция:

Билирубин >684 мкмоль/л, гемоглобин > 500 мг/дл.

*Аналитические характеристики:

Чувствительность: 0,1 мг/л.

Линейность: до 10 мг/л.

Если концентрация цистатина С в образце превышает 10 мг/л, то образец необходимо разбавить раствором хлорида натрия (9 г/л) в соотношении 1:4, а полученный результат умножить на 5.

Эффект прозоны не наблюдается до 60 мг/л

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии	Воспроизводимость межсерийная		
Среднее (мг/л)	0,82	2,66	0,78	2,75
SD	0,028	0,085	0,028	0,94
CV, %	3,4	3,2	3,6	3,4
n	10	10	10	10

Корреляция:

30 образцов было проанализировано с использованием Набора реагентов для определения цистатина С (производства «Диасенс») и другим набором реагентов, внесенным в Реестр средств медицинского назначения РБ.

Коэффициент корреляции: 0,991.

*Данные получены при использовании анализатора Mindray серии BS, для других анализаторов они могут отличаться.

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

По вопросам методической помощи и закупки обращаться по телефонам: 8017-300-65-11; 8017-320-65-10