

REF		SYSTEM
11875116 122	100	Elecsys 2010 MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

Lietuvių

Paskirtis

Imunologinis tyrimas, skirtas kiekybiniam in vitro kortizolio koncentracijos nustatymui žmogaus serume, plazmoje, šlapime ir seilėse. Kortizolio nustatymas naudojamas funkcinį antinksčių sutrikimų apžadinimui ir gydymui.

Elektrochemiluminescencinis imunologinis tyrimas (angl. **electrochemiluminescence immunoassay-ECLIA**) yra skirtas naudoti Elecsys ir **cobas e** imunologiniuose analizatoriuose.

Santrauka

Kortizolis (hidrokortizonas) yra geriausiai žinomas gliukokortikosteroidas ir yra būtinas kai kurių organizmo funkcijų palaikymui. Kaip ir kiti gliukokortikosteroidai, kortizolis sintetinas antinksčių žievės pluoštinėje zonoje (lot. zona fasciculata) iš bendro prekursoriaus cholesterolio. Kortizolio pemaša kraujyje vyksta maždaug 90 % kortizolio susijungus su kortikosteroidus prijungiančiu globulinu (angl. corticosteroid binding protein - CBG) ir albuminu. Tik nedideli kortizolio kiekiai kraujyje cirkuluoja nesujungti ir gali laisvai sąveikauti su receptoriais.¹

Patys svarbiausi kortizolio fiziologiniai efektai yra gliukozės koncentracijos kraujyje didinimas (skatinama gliukoneogenezė, katabolizmas) ir priešūždegiminis bei imunosupresinis poveikis.¹

Kortizolio sintezė ir sekrecija antinksčiuose kontroliuojama neigiamo atgalinio ryšio mechanizmu per pogrumburio-hipofizės-antinksčių ašį. Jeigu kortizolio koncentracija maža, pogrumburyje išskiriamas kortikotropiną atpalaiduojantis hormonas (angl. corticotropin releasing hormone - CRH), kuris sąlygoja adrenokortikotropinio hormono (angl. adrenocorticotrophic hormone - ACTH) atpalaidavimą hipofizėje. Tai stimuliuoja kortizolio sintezę ir sekreciją antinksčiuose. Pats kortizolis veikia hipofizę ir pogrumburį neigiamo atgalinio ryšio mechanizmu. Kortizolio sekrecija taip pat padidėja streso metu.¹

Kortizolio koncentracijai serume paprastai būdingi paros svyravimai.¹ Maksimali koncentracija (700 nmol/L ar 25.4 µg/dL) dažniausiai pasiekama anksti ryte, vėliau dienos bėgyje koncentracija nukrenta iki vakarinio lygio, kuris sudaro maždaug pusę ryto koncentracijos. Taigi, rezultatų interpretacijai svarbu žinoti serumo mėginio paėmimo laiką.

Paciento kortizolio koncentracijos rodikliai naudojami vertinant antinksčių, hipofizės ir pagumburio funkciją bei diagnozuojant funkcijos sutrikimus.^{2,3} Taigi, kortizolio koncentracija serume naudojama kai kurių ligų, su pertekline (pvz.: Kušingo sindromas)^{4,5} ar sumažėjusia (pvz.: Adisono liga) kortizolio gamyba, stebėsenai ir kai kurių gydymo būdų (pvz.: deksametazono supresijos terapijos, sergant Kušingo liga, ar pakaitinės hormonų terapijos, sergant Adisono liga) stebėsenai.

Kortizolio koncentracijos nustatymas 24-valandų šlapime yra pasirenkamas Kušingo sindromo diagnostikos būdas, kadangi kortizolio ekskrecija su šlapimu nėra veikiamą kortizolio sekrecijos paros svyravimų.⁶ Tai įgalina geriau diferencijuoti sveikus individus ir pacientus sergančius Kušingo sindromu. Kortizolis, kuris nepakitęs išskiriamas su šlapimu, vadinamas laisvu šlapimo kortizoliu (angl. urinary free cortisol - UFC). Dažniausiai tarp laisvo šlapimo kortizolio ir nesurišto, taigi biologiškai aktyvaus, kortizolio kraujyje yra tiesiogiai proporcingas ryšys.¹

Paskutinės studijos parodė, kad kai kurie naktiniai kortizolio koncentracijos seilėse matavimai yra vertingesni už laisvo šlapimo kortizolio matavimus diagnozuojant Kušingo sindromą.^{7,8,9,10}

Naktinės kortizolio koncentracijos seilėse nustatymas ypač naudingas tiriant vaikus, psichiatrinis pacientus ir kitus subjektus, kuriems įvairūs stresiniai veiksniai galėtų paveikti antinksčių žievę ir sąlygoti padidėjusias antinksčių steroidų koncentracijas.¹¹

Atliekant Elecsys Cortisol tyrimą naudojamas konkurencinis tyrimo principas, pasitelkiant polikloninį antikūną, specifiskai nukreiptą prieš kortizolį. Endogeninis kortizolis esantis mėginyje, kuris atskiriamas nuo sujungiančiųjų baltymų veikiant danazolui, konkuruoja su egzogeniniu

kortizolio derivatu pažymėtu rutenio kompleksu^{a)} dėl biotilinto antikūno prisijungimo vietų.

Šlapimas gali būti naudojamas analizei po ekstrakavimo su dichlormetanu (sąveikaujančių medžiagų sumažinimui).

Neapdorotos seilės naudojamos iškart po centrifugavimo.

a) Tris(2,2'-bipyridil)rutenio(II)-kompleksas (Ru(bpy)₃²⁺)

Tyrimo principas

Konkurencijos principas. Bendra tyrimo trukmė: 18 minučių.

- 1-oji inkubacija: 20 µL mėginio inkubuojama su kortizoliu specifisku biotilintu antikūnu ir kortizolio derivatu, žymėtu rutenio kompleksu. Priklausomai nuo analitės koncentracijos mėginyje ir atitinkamo imuninio komplekso susidarymo, žymėto antikūno prisijungimo vieta užimama iš dalies mėginio analite ir iš dalies rutenilintu haptenu.
- 2-oji inkubacija: Pridėjus streptavidinu dengtų mikrodalelių, sąveikaujant biotinui ir streptavidinui, kompleksas prisijungia prie kietosios fazės.
- Reakcijos mišinys įsiurbiamas į matavimo kamerą, kurioje ant elektrodo paviršiaus magnetiniu būdu surenkamos mikrodalės. Nesurištos medžiagos pašalinamos naudojant ProCell/ProCell M. Prie elektrodo prijungus elektros srovę skatinama chemiluminescencinė emisija, kurios dydis išmatuojamas fotodaugintuvu.
- Rezultatai nustatomi iš kalibravimo kreivės, kuri kiekvienam analizatoriui generuojama iš 2 taškų kalibravimo ir iš pagrindinės kreivės, pateikiamos su reagentų brūkšninio kodo.

Reagentai - darbiniai tirpalai

Ši reagentų stovo pakuotė yra pažymėta CORT.

- M Streptavidinu dengtos mikrodalės (permatomas dangtelis), 1 buteliukas, 6.5 mL:
Streptavidinu dengtos mikrodalės, 0.72 mg/mL; konservantas.
- R1 Anti-kortizolio-Ak~biotinas (pilkas dangtelis), 1 buteliukas, 9 mL:
Biotilinti polikloniniai anti-kortizolio antikūnai (avies) 90 ng/mL; MES^{b)} buferis 100 mmol/L, pH 6.0; konservantas.
- R2 Kortizolio-peptidas~Ru(bpy)₃²⁺ (juodas dangtelis), 1 buteliukas, 9 mL:
Kortizolio derivatas (sintetinis), žymėtas rutenio kompleksu 25 ng/mL; danazolius 20 µg/mL; MES buferis 100 mmol/L, pH 6.0; konservantas.

b) MES = 2-morfolino-etano sulfoninė rūgštis

Atsargumo priemonės ir įspėjimai

Skirtas naudoti in vitro diagnostikai.

Laikykites įprastų atsargumo priemonių, būtinų dirbant su visais laboratorijos reagentais.

Visos atliekos turi būti tvarkomos laikantis vietos reikalavimų. Saugos duomenų lapas pateikiamas profesionaliems naudotojams paprašius.

Dirbdami su visų rūšių reagentais ir mėginiais (mėginiais, kalibratoriais ir kontrolinėmis medžiagomis) venkite putų susidarymo.

Reagentų paruošimas

Visi rinkinio reagentai paruošti naudojimui, jų negalima naudoti atskirai nuo rinkinio.

Visa informacija, reikalinga tinkamam tyrimo atlikimui, gali būti nuskaityama nuo atitinkamo reagento brūkšninio kodo.

Laikymo sąlygos ir stabilumas

Laikyti 2-8 °C temperatūroje.

Neužšaldykite.

Laikykite Elecsys reagentų rinkinį **statmenai**, kad mikrodalės būtų visiškai prieinamos prieš procedūrą atliekamo automatinio maišymo metu.



Stabilumas:	
neatidarius, 2-8 °C temperatūroje	iki nurodytos galiojimo datos
atidarius, 2-8 °C temperatūroje	12 savaitių
analizatoriuose	8 savaitės

Mėginių surinkimas ir paruošimas

Buvo patikrinti tik toliau išvardyti mėginiai.

Serumas ir plazma:

Serumas surenkamas į standartinius mėgintuvėlius arba mėgintuvėlius su skiriančiuoju geliu.

Li⁺, Na⁺, NH₄⁺-heparino, K₂⁻, K₃⁻, Na₂-EDTA ir natrio citrato plazma. Naudojant natrio citratą, rezultatus reikia koreguoti + 10 %.

Kriterijus: vertės atskaitojimas 90-110 % serumo reikšmių ribose arba nuokrypis 0.9-1.1 + sankirtos taškas < ± 2x analitinio jautrumo (LDL) + koreliacijos koeficientas > 0.95.

Reikšmės gaunamos naudojant natrio fluorida/kalio oksalato plazmą yra 27 % žemesnės nei tos, kurios gaunamos tiriant serumą.

Atkreipkite dėmesį: Dėl cirkadinių kortizolio koncentracijos serume ir plazmoje pokyčių, būtina nurodyti mėginio paėmimo laiką.

Stabilus 5 dienas 2-8 °C temperatūroje, 3 mėnesius -20 °C temperatūroje. Užšaldyti tik vieną kartą.¹²

Seilės:

Paimkite seilių mėginį naudodami Salivette priemonę.

Nenaudokite indelių su citrinos rūgštimi.

Išimkite tamponą iš dėklo ir švelniai apie 2 minutes pakramtykite, kad tamponas prisigertų seilių. Gražinkite tamponą į dėklą ir uždarykite mėgintuvėlį. Centrifuguokite Salivette 2 minutes 1000 g išcentrine jėga, kad atskirtumėte seiles į išorinį mėgintuvėlį. Elecsys Cortisol tyrimui naudokite skaidrią centrifuguotą viršutinę frakciją (angl. supernatant). Naudokite seilių mėginius taip pat kaip ir serumo ar plazmos.

Centrifuguotų seilių mėginys stabilus 5 dienas 2-8 °C temperatūroje, 3 mėnesius -20 °C temperatūroje. Užšaldyti tik vieną kartą.¹³

Šlapimas:

Surinkite 24-valandų šlapimą į švarias talpyklas be konservantų ir išmatuokite tūrį (L/24 h). Esant poreikiui, prieš ekstrahavimą centrifuguokite nuosėdas. Naudokite ekstrahuotus šlapimo mėginius analizei taip pat kaip ir plazmos ar serumo mėginius.

Šlapimo mėginių stabilumas: 7 dienos 2-8 °C temperatūroje, 3 mėnesiai -20 °C temperatūroje. Užšaldyti tik vieną kartą.

Paruošto ekstrakto stabilumas: 7 dienos 2-8 °C temperatūroje, 4 savaitės -20 °C temperatūroje. Užšaldyti tik vieną kartą.

Išvardintų rūšių mėginiai (serumo ir plazmos) buvo tiriami, pasirinkus tyrimo metu rinkoje buvusius mėgintuvėlius, t.y. nebuvo patikrinti visų gamintojų mėgintuvėliai. Įvairių gamintojų mėginių surinkimo sistemose gali būti skirtingų medžiagų, kurios kai kuriais atvejais gali paveikti tyrimo rezultatus. Jei mėginius apdorojate pirminiuose mėgintuvėliuose (mėginių surinkimo sistemose), laikykitės mėgintuvėlių gamintojo instrukcijų.

Prieš atlikdami tyrimą, mėginius su nuosėdomis centrifuguokite.

Nenaudokite mėginių, inaktyvintų dėl karščio poveikio.

Nenaudokite mėginių ir kontrolių, kurių stabilizavimui buvo naudotas azidas.

Užtikrinkite, kad mėginiai, kalibratoriai ir kontrolinės medžiagos prieš matavimą būtų 20-25 °C temperatūros.

Dėl galimo garavimo poveikio, mėginių, kalibratorių ir kontrolių matavimai analizatoriuose turėtų būti atlikti per 2 valandas.

Pateiktos medžiagos

Apie reagentus skaitykite skyriuje „Reagentai - darbiniai tirpalai“.

Reikalingos (bet nepateikiamos) medžiagos

- [REF] 11875124122, Cortisol CalSet, skirtas 4 x 1 mL
- [REF] 11731416190, PreciControl Universal, skirta 2 x 3 mL kiekvienam iš PreciControl Universal 1 ir 2
- [REF] 11732277122, Diluent Universal, 2 x 16 mL mėginių skiediklis arba [REF] 03183971122, Diluent Universal, 2 x 36 mL mėginių skiediklis
- Bendra laboratorijos įranga

- Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 arba **cobas e** analizatoriaus

Kortizolio nustatymui šlapime papildomai reikia:

- Dichlormetano (metileno chlorido)
- Tinkamų stiklinių mėgintuvėlių, pipečių, rotacinio plakiklio (pvz.: vortex), azoto ir ekstrahavimo gaubto

Kortizolio nustatymui seilėse papildomai reikia:

- Salivette®, mėginių surinkimo mėgintuvėlio (vatos tampono mėgintuvėlis be apdorojimo), Sarstedt, Nümbrecht, Vokietija, [REF] 51.1534

Elecsys 2010 ir **cobas e** 411 analizatorių priedai:

- [REF] 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL sistemos buferis
- [REF] 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL matavimo kameros valymo tirpalas
- [REF] 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL plovimui skirtos vandens priedas
- [REF] 11933159001, Adapter for SysClean, adapteris
- [REF] 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 reakcijų indeliai
- [REF] 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pipečių antgaliai

MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 ir **cobas e** 602 analizatorių priedai:

- [REF] 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L sistemos buferis
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L matavimo kameros valymo tirpalas
- [REF] 03023141001, PC/CC-Cups, 12 puodelių ProCell M ir CleanCell M paruošiamajam sušildymui prieš naudojimą
- [REF] 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL valymo tirpalas finalizavimo etapui ir praplovimui reagentų keitimo metu
- [REF] 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 dėtuvių x 84 reakcijos indeliai ar pipečių antgaliai, atliekų maišeliai
- [REF] 03023150001, WasteLiner, atliekų maišeliai
- [REF] 03027651001, SysClean Adapter M, adapteris

Priedai visiems analizatoriams:

- [REF] 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL sistemos valymo tirpalas

Tyrimas

Šlapimo mėginių ekstrahavimas ir paruošimas

- Stikliniame mėgintuvėlyje 7 minutes gerai išmaišykite 600 µL šlapimo + 3.0 mL dichlormetano.
- Centrifuguokite 5 minutes 2500 g išcentrine jėga, kad atskirtumėte sluoksnius.
- Pašalinkite vandens sluoksnį ir galimai sluoksnių sandūroje susidariusias nuosėdas.
- Perkelkite 1.5 mL dichlormetano sluoksnio į švarų stiklinį mėgintuvėlį ir, uždenę gaubtu, redukuokite iki išdžiūvimo, paleisdami švelnią azoto srovę.
- Ištirpinkite sausas nuosėdas su 300 µL Diluent Universal skiediklio ir inkubuokite 30 minučių 15-25 °C temperatūroje, pamaišydami rotaciniame maišytuve 4 kartus per 1 minutę.
- Paruoštus mėginius tirkite taip pat kaip ir serumo ir plazmos mėginius.

Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, laikykitės šiame dokumente pateiktų analizatoriaus naudojimo instrukcijų. Specifines analizatoriui tyrimo instrukcijas skaitykite atitinkamame naudotojo vadove.

Mikrodalelės pakartotinai suspenduojamos automatiškai, prieš panaudojimą. Specifinius tyrimo parametrus nuskaitykite iš reagento brūkšninio kodo. Išimtiniais atvejais, kai neįmanoma nuskaityti brūkšninio kodo, įveskite 15-os ženklų skaitmenų seką.

Atvėsintus reagentus sušildykite iki maždaug 20 °C temperatūros ir įstatykite į analizatoriaus reagentų diską (20 °C). Venkite putų susidarymo. Sistema automatiškai reguliuoja reagentų temperatūrą ir buteliukų atidarymą/uždarymą.



Kalibravimas

Atsekamumas: Šis metodas buvo standartizuotas pagal Enzymun-Test Cortisol metodą. Šis, savo ruožtu, buvo standartizuotas naudojant ID-MS.¹⁴

Elecsys Cortisol tyrimo rezultatų atkuriamumas buvo 89-111 %, atliekant tyrimą su IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgija)/IFCC-451 rinkiniu (ID/GC/MS),^{14,15} kuris apėmė 34 mėginius, kurių koncentracijų intervalas nuo 83 iki 764 nmol/L.

Kiekviename Elecsys reagentų rinkinyje yra etiketė su brūkšniu kodu, joje – konkreti tam tikros reagentų partijos kalibravimui reikalinga informacija. Numatytoji pagrindinė kreivė yra pritaikoma analizatoriui, naudojant atitinkamą CalSet.

Kalibravimo dažnis: kalibravimas turi būti atliekamas po vieną kartą su kiekviena reagentų partija, naudojant šviežią reagentą (t. y. praėjus ne daugiau nei 24 valandoms nuo reagentų rinkinio registravimo analizatoriuje). Kalibravimo atnaujinimas rekomenduojamas:

- po 1 mėnesio (28 dienų), naudojant tos pačios partijos reagentus
- po 7 dienų (analizatoriuje naudojant tą patį reagentų rinkinį)
- pagal poreikį: pvz.: jei kokybės kontrolės rezultatai nepatenka į nurodytas ribas

Kokybės kontrolė

Kokybės kontrolei naudokite PreciControl Universal.

Papildomai galima naudoti kitą tinkamą kontrolinę medžiagą.

Šlapimo kontrolinės medžiagos turėtų būti ekstrahuojamos ir tiriamos taip pat kaip ir šlapimo mėginiai.

Skirtingiems koncentracijų intervalams skirtos kontrolės turėtų būti atliekamos atskirai (kiekviena) bent kartą per 24 valandas, kai tyrimas yra naudojamas; vieną kartą - vienam reagentų rinkiniui, taip pat po kiekvieno kalibravimo.

Kontrolės intervalai ir apribojimai turėtų atitikti kiekvienos laboratorijos individualius reikalavimus. Gautos reikšmės turėtų patekti į nustatytas ribas. Kiekviena laboratorija turi numatyti korekcines priemones, kurių reikėtų imtis, reikšmėms nepatekus į nustatytas ribas.

Vadovaukitės nustatytais valstybiniais ir vietiniais reikalavimais kokybės kontrolei užtikrinti.

Skaičiavimas

Analizatorius automatiškai paskaičiuoja kiekvieno mėginio analizės koncentraciją (nmol/L, µg/dL arba µg/L).

Perskaičiavimo faktoriai:	nmol/L x 0.03625 = µg/dL
	nmol/L x 0.3625 = µg/L
	µg/dL x 27.586 = nmol/L
	µg/L x 2.7586 = nmol/L

Laisvo šlapimo kortizolio skaičiavimas rankiniu būdu: kortizolio ekskrecija per 24-valandas (kortizolio koncentracija/24 h):

Padauginkite analizatoriaus rezultatus iš 24-valandų šlapimo tūrio (L/24 h) (kai analizatoriaus rezultatai pateikiami µg/dL, padauginkite dar kartą iš 10 = µg/24 h). Vidutinė nustatyta ekstrahavimo išeiga (n = 25) yra 94 %.

Apribojimai - poveikiai

Kuomet tiriamas serumas ir plazma, tyrimui įtakos neturi: gelta (bilirubinas 1026 µmol/L arba < 60 mg/dL), hemolizė (Hb < 1.2 mmol/L arba < 1.9 g/dL), lipemija (intralipidai < 2700 mg/dL) ir biotinas (< 123 nmol/L arba < 30 ng/mL).

Kriterijus: vertės suradimas ± 10 % pradinės reikšmės ribose.

Kuomet tiriamas šlapimas, tyrimui įtakos neturi 60 mg/dL baltymo, 750 mmol/L NaCl, 350 mmol/L šlapalo, 5 mmol/L kreatinino, 2 mmol/L gliukozės.

Kriterijus: vertės suradimas ± 15 % pradinės reikšmės ribose.

Pacientams, gydomiems didelėmis biotino dozėmis (t.y. > 5 mg/parai), kraujo mėginį galima imti praėjus ne mažiau kaip 8 valandoms po paskutinės biotino dozės suvartojimo.

Reumatoidinio faktoriaus įtaka nebuvo pastebėta, kai jo koncentracija siekė iki 1100 IU/mL.

Buvo atlikti in vitro tyrimai su 17 dažniausiai naudojamų medikamentų. Poveikis tyrimui nebuvo nustatytas.

Retais atvejais gali pasitaikyti trukdžių dėl ypač didelių specifinių tyrimo antikūnų, rutenio ar streptavidino antikūnų titrų. Šių trukdžių įtaką sumažina tam pritaikyta tyrimo procedūra.

Nėštumas, kontraceptikai ir estrogenų terapija sukelia kortizolio koncentracijos padidėjimą.

Tiriant pacientų, gydytų prednizolonu, metilprednizolonu ar prednizonu, mėginius gali būti nustatyta klaidingai padidėjusi kortizolio koncentracija.

Metirapono testo metu, 11-deoksikortizolio koncentracija padidėja. Klaidingai padidėjusi kortizolio koncentracija gali būti nustatyta dėl kryžminio reaktyvumo (žr. skyrių „analitinis specifiškumas“).

Pacientų, turinčių 21-hidroksilazės deficitą, 21-deoksikortizolio koncentracijos būna didesnės ir tai gali sąlygoti padidėjusią kortizolio koncentraciją.

Interpretuojant tyrimo rezultatus, būtina atsižvelgti į mėginio paėmimo laiką, kadangi kortizolio sekrecijai būdingas cirkadinis ritmas. Stiprus stresas taip pat gali sąlygoti padidėjusią kortizolio koncentraciją.

Diagnozuojant, rezultatai visada turėtų būti vertinami kartu su paciento anamneze, fizinio ištyrimo duomenimis ir kitais radiniais.

Apribojimai ir reikšmių ribos

Matavimų ribos

0.5-1750 nmol/L arba 0.018-63.4 µg/dL (apibrėžiamos pagal apatinę nustatymo ribą ir pagrindinės kreivės maksimumą). Reikšmės, esančios žemiau nustatymo ribos, yra pateikiamos kaip < 0.5 nmol/L (< 0.018 µg/dL). Reikšmės, esančios virš matavimų ribos, yra pateikiamos kaip > 1750 nmol/L (> 63.4 µg/dL) (arba iki 17500 nmol/L arba 634 µg/dL 10 kartų atskiestuose mėginiuose).

Matavimo reikšmių apatinės ribos

Apatinė tyrimo nustatymo riba

Apatinė nustatymo riba: 0.500 nmol/L (0.018 µg/dL)

Apatinė nustatymo riba parodo žemiausią išmatuojamą analizės koncentraciją, kurią galima atskirti nuo nulio. Ji apskaičiuojama kaip reikšmė, esanti dviem standartiniais nuokrypiais aukščiau žemiausio standarto (pagrindinis kalibratorius, standartas 1 + 2 SD, atkartojamumo tyrimas, n = 21).

Skiedimas

Serumo ir plazmos mėginiai, kurių kortizolio koncentracijos yra aukščiau matavimų ribos, gali būti skiedžiami Diluent Universal skiedikliu.

Rekomenduojamas atskiedimo santykis yra 1:10 (nustatomas automatiškai MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 arba **cobas e** analizatoriuose arba rankiniu būdu). Atskiesto mėginio koncentracija turi būti > 50 nmol/L ar > 1.8 µg/dL.

Po rankiniu būdu atliekamo skiedimo rezultatą padauginkite iš skiedimo koeficiento.

Po atskiedimo analizatoriuje, MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 ir **cobas e** programa automatiškai įvertina atskiedimą skaičiuojant mėginio koncentraciją.

Šlapimo mėginiai, kurių koncentracija viršija matavimų ribas gali būti atskiedžiami prieš ekstrahavimą naudojant šlapimą su maža analizės koncentracija. Į šį atskiedimą turi būti atsižvelgiama skaičiuojant kortizolio koncentraciją šlapime.

Tikėtinės reikšmės

Kortizolis serume ir plazmoje

Atliekant Elecsys Cortisol tyrimo studijas su sveikais individualiais buvo nustatytos toliau pateikiamos reikšmės (5-oji-95-oji procentilės):

Rytinės valandos 7-10 a.m.: 171-536 nmol/L (6.2-19.4 µg/dL), n = 144

Popiečio valandos 4-8 p.m.: 64-327 nmol/L (2.3-11.9 µg/dL), n = 135

Laisvas šlapimo kortizolis

Atliekant Elecsys Cortisol tyrimo studijas su 88 sveikų individų šlapimo mėginiais, buvo nustatytos toliau pateikiamos reikšmės (5-oji-95-oji procentilė):

100-379 nmol/24 h (36-137 µg/24 h)

Kortizolis seilėse

Seilių mėginiuose, tirtuose Elecsys Cortisol tyrimu, iš 154 sveikų individų buvo nustatytos toliau pateikiamos reikšmės (95-oji procentilė):

Rytinės valandos 8-10 a.m.: < 19.1 nmol/L (< 0.69 µg/dL)

Popiečio valandos 2:30-3:30 p.m.: < 11.9 nmol/L (< 0.43 µg/dL)



Vidurnakčio valandos: žr. „Nuorodos“¹⁶

Kiekviena laboratorija turėtų įvertinti tikėtinų reikšmių tinkamumą savų pacientų populiacijai ir, jei būtina, nustatyti savo rekomenduojamas reikšmes.

Specifiniai tyrimo atlikimo duomenys

Toliau pateikiami atitinkamų analizatorių tyrimo charakteristikų duomenys. Atskirose laboratorijose gauti rezultatai gali skirtis.

Glaudumas

Glaudumas buvo nustatytas, naudojant Elecsys reagentus, žmogaus serumų mišinius ir kontrolines medžiagas, pagal pakeistą CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) metodiką (EP5-A): 6 kartus per dieną, 10 dienų (n = 60); tyrimo atkartojamumas su MODULAR ANALYTICS E170 analizatoriumi, n = 21. Buvo gauti šie rezultatai:

Elecsys 2010 ir cobas e 411 analizatoriai								
Mėginys		Atkartojamumas			Tarpinis glaudumas			
		Vidurkis		SD	CV	SD		CV
		nmol/L	µg/dL			nmol/L	µg/dL	
ŽS ^{c)} 1	208	7.53	2.76	0.10	1.3	3.29	0.12	1.6
ŽS 2	561	20.3	7.40	0.23	1.3	8.36	0.30	1.5
ŽS 3	1268	46.0	14.0	0.52	1.1	19.9	0.72	1.6
PC U ^{d)} 1	363	13.2	5.08	0.18	1.4	5.67	0.21	1.6
PC U2	865	31.4	8.54	0.31	1.0	12.5	0.45	1.4

c) ŽS - žmogaus serumas

d) PC U - PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 ir cobas e 602 analizatoriai						
Mėginys		Atkartojamumas				
		Vidurkis		SD		CV
		nmol/L	µg/dL	nmol/L	µg/dL	
ŽS 1	129	4.69	2.25	0.08	1.7	
ŽS 2	352	12.8	5.19	0.19	1.5	
ŽS 3	717	26.0	12.5	0.45	1.7	
PC U1	418	15.1	4.59	0.17	1.1	
PC U2	866	31.4	8.90	0.32	1.0	

MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 ir cobas e 602 analizatoriai						
Mėginys		Tarpinis glaudumas				
		Vidurkis		SD		CV
		nmol/L	µg/dL	nmol/L	µg/dL	
ŽS 1	124	4.51	2.79	0.10	2.2	
ŽS 2	341	12.4	9.72	0.35	2.8	
ŽS 3	691	25.1	12.4	0.45	1.8	
PC U1	410	14.8	6.76	0.25	1.7	
PC U2	846	30.7	11.5	0.42	1.4	

Norint apibūdinti ekstrahavimo ir tirpinimo poveikį tikslumui, galima naudoti toliau pateikiamą lentelę, lyginant ją su atitinkama viršuje esančia lentele su serumo mėginiais.

Kortizolio nustatymo šlapime tikslumas buvo nustatytas naudojant Elecsys reagentus, šlapimo mėginius ir šlapimo kontrolę atlikus 25 kartų ekstrahavimą per vieną etapą (atkartojamumas n = 25) ir pamatavus 10 pavienių šlapimo ekstraktų po vieną nustatymą per 10 kartų (tarpinis tikslumas n = 10):

Elecsys 2010 ir cobas e 411 analizatoriai					
Mėginys		Atkartojamumas, įskaitant ekstrahavimą			
		Vidurkis		SD	
		nmol/L	µg/dL	nmol/L	µg/dL
Šlapimas 1	617	22.3	13.3	0.48	2.2
Šlapimas 2	917	33.2	21.2	0.77	2.3
Šlapimas 3	1156	41.9	33.2	1.20	2.9
Šlapimas 4	1683	61.0	39.1	1.42	2.3
Šlapimo kontrolė 1	-	-	-	-	-

Elecsys 2010 ir cobas e 411 analizatoriai					
Mėginys		Tarpinis tikslumas, įskaitant ekstrahavimą			
		Vidurkis		SD	
		nmol/L	µg/dL	nmol/L	µg/dL
Šlapimas 1	639	23.2	15.9	0.58	2.5
Šlapimas 2	922	33.4	29.4	1.07	3.2
Šlapimas 3	1162	42.1	28.7	1.04	2.5
Šlapimas 4	1625	58.9	30.0	1.09	1.8
Šlapimo kontrolė 1	77.8	2.82	3.66	0.13	4.7

Kortizolio nustatymo seilėse tikslumas buvo nustatytas naudojant Elecsys reagentus, natyvinis seilių mėginius ir kontrolinius seilių mėginius su pridėtomis medžiagomis (angl. spiked saliva samples) vienu kartu (atkartojamumas n = 21) ir pavieniais nustatymais 10 kartų (tarpinis tikslumas n = 10): Nustatant atkartojamumą ir tarpinį tikslumą buvo naudojami skirtingi seilių mėginiai.

Elecsys 2010 ir cobas e 411 analizatoriai					
Mėginys		Atkartojamumas			
		Vidurkis		SD	
		nmol/L	µg/dL	nmol/L	µg/dL
Seilės 1	4.68	0.170	0.287	0.010	6.1
Seilės 2	11.5	0.417	0.309	0.011	2.7
Seilės 3	15.1	0.547	0.611	0.022	4.0
Seilės 4	15.9	0.576	0.245	0.009	1.5
Seilės 5	19.8	0.718	0.611	0.022	2.8

Elecsys 2010 ir cobas e 411 analizatoriai					
Mėginys		Tarpinis glaudumas			
		Vidurkis		SD	
		nmol/L	µg/dL	nmol/L	µg/dL
Seilės 1	2.08	0.075	0.696	0.025	33.4
Seilės 2	8.05	0.292	0.924	0.033	11.5
Seilės 3	13.1	0.475	0.938	0.034	7.1
Seilės 4	34.6	1.25	1.69	0.061	4.9
Seilės 5	42.5	1.54	1.76	0.064	4.1

Metodų palyginimas

Serumas:

Palyginus Elecsys Cortisol tyrimą (y) su Enzymun-Test Cortisol metodu (x), naudojant 95 klinikinius mėginius, gautos tokios koreliacijos (nmol/L):

Passing/Bablok¹⁷

y = 1.11x - 25.3

r = 0.885

Tiesinė regresija

y = 1.08x - 22.2

r = 0.985



Cortisol

Mėginių koncentracijos apytiksliai buvo nuo 100 iki 1240 nmol/L arba nuo 3.6 iki 45 µg/dL.

Šlapimas:

Palyginus Elecsys Cortisol tyrimą (y) su rinkoje esančiu kortizolio tyrimu (x), naudojant 127 ekstrahuoto šlapimo mėginius, gautos tokios koreliacijos (nmol/L):

Passing/Bablok¹⁷

Nuolydis: 1.32 (95 % pasikliautinis intervalas: 1.26-1.44)

Sankirtos taškas: 2.32 (95 % pasikliautinis intervalas: -7.82-7.18)

$r = 0.787$

Tiesinė regresija

Nuolydis: 1.23 (95 % pasikliautinis intervalas: 1.20-1.26)

Sankirtos taškas: 15.3 (95 % pasikliautinis intervalas: 9.89-20.70)

$r = 0.990$

Mėginių koncentracijos buvo nuo 5.52 iki 1402 nmol/L arba nuo 0.20 iki 50.82 µg/dL, matuojant su rinkoje buvusiu kortizolio testu.

Seilės:

Palyginus Elecsys Cortisol tyrimą (y) su rinkoje esančiu kortizolio tyrimu sukurtu specialiai kortizolio nustatymui seilėse (x), naudojant 326 seilių mėginius, gautos tokios koreliacijos (nmol/L):

Passing/Bablok¹⁷

Nuolydis: 1.12 (95 % pasikliautinis intervalas: 1.03-1.22)

Sankirtos taškas: 0.52 (95 % pasikliautinis intervalas: -0.06-0.83)

$r = 0.531$

Tiesinė regresija

Nuolydis: 0.90 (95 % pasikliautinis intervalas: 0.87-0.94)

Sankirtos taškas: 1.71 (95 % pasikliautinis intervalas: 1.47-1.96)

$r = 0.942$

Mėginių koncentracijos buvo tarp 1.29 ir 50.4 nmol/L ar 0.05 ir 1.83 µg/dL, matuojant su rinkoje buvusiu kortizolio testu.

Analitinis specifiskumas

Su naudotu antikūno derivatu buvo nustatytos tokios kryžminės reakcijos (%):

a) Pridėta medžiagos į 10 µg/mL:

kortikosteronas	5.8
kortizolio-21-sulfatas	0.04
kortizonas	0.30
11-deoksikortikosteronas	0.69
11-deoksikortizolis	4.1
deksametazonas	0.08
17-α-hidroksiprogesteronas	1.50
prednizonas	0.28
progesteronas	0.35

b) Pridėta medžiagos 1 µg/mL:

21-deoksikortizolis	45.4
6-β-hidroksikortizolis	158

c) Pridėta medžiagos į 0.1 µg/mL:

alotetrahidrokortizolis	165
prednizonas	171
6-α-metilprednizonas	389

Funkcinis jautrumas

< 8.5 nmol/L (< 0.308 µg/dL)

Funkcinis jautrumas yra mažiausia analizės koncentracija, kurią galima atkurti išmatuoti, kai tarpinis variacijos koeficientas CV yra 20 %. Nustatyta naudojant žemos koncentracijos seilių mėginius.

Nuorodos

- Aron DC, Tyrell JB. Glucocorticoids & Adrenal Androgens. In: Greensoan FS, Baxter JD (eds), Basic & Clinical Endocrinology, 4th edition Appleton & Lange, USA 1994;307-346.
- Hasinski S. Assessment of adrenal glucocorticoid function. Postgrad Med 1998;104(1):61-64.
- Rosalki SB. Biochemical Testing of adrenocortical function. Int J Clin Pract 1998;52(3):189-191.
- Newell-Price J, Trainer P, Besser M, et al. The Diagnosis and Differential Diagnosis of Cushing's Syndrome and Pseudo-Cushing's States. Endocr Rev 1998;19(5):647-672.
- Ross RJM, Trainer PJ. Endocrine investigation: Cushing's syndrome. Clin Endocrinol 1998;49:153-155.
- Miyachi Y. Pathophysiology and diagnosis of Cushing's syndrome. Biomed Pharmacother 2000;54:113-117.
- van Aken, Romijn JA, Miltenburg JA, et al. Automated Measurement of Salivary Cortisol. Clin Chem 2003;49(8):1408-1409.
- Raff H, Findling JW. A Physiologic Approach to Diagnosis of the Cushing Syndrome. Ann Intern Med 2003;138(12):980-991.
- Raff H, Homar PJ, Skoner DP. New Enzyme Immunoassay for Salivary Cortisol. Clin Chem 2003;49(1):203-204.
- Gröschl M, Rauh M, Dörr HG. Circadian Rhythm of Salivary Cortisol, 17α-Hydroxyprogesterone, and Progesterone in Healthy Children. Clin Chem 2003;49(10):1688-1691.
- Chiu SK, Collier CP, Clark AF, et al. Salivary cortisol on Roche Elecsys immunoassay system: pilot biological variations studies. Clin Biochem 2003;36:211-214.
- Wu AHB. Tietz Clinical Guide To Laboratory Tests, 4th Edition, WB Saunders Co, 2006: 300 pp.
- Aardal E, Holm AC. Cortisol in Saliva - Reference Ranges and Relation to Cortisol in Serum. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995;33:927-932.
- Siekmann L, Breuer H. Determination of Cortisol in Human Plasma by Isotope Dilution-Mass Spectrometry. J Clin Chem Clin Biochem 1982;20:883-892.
- Thienpont LM, De Brabandere VI, Stöckl D, et al. Candidate Reference Method for Determining Serum Cortisol Based on Isotope Dilution-Gas Chromatography/Mass Spectrometry Using Heptafluorobutyrylation as Derivatization Method. Anal Biochem 1996;234:204-209.
- Yaneva M, Kirilov G, Zacharieva S. Midnight salivary cortisol, measured by highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay, for the diagnosis of Cushing's syndrome. Cent Eur J Med 2009;4(1):59-64.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Išsamesnės informacijos ieškokite jus dominančio analizatoriaus naudotojo vadove, atitinkamuose pritaikymo aprašuose, produkto informacijoje ir visų reikiamų komponentų pakuočių informaciniuose lapeliuose (jeigu jie prieinami jūsų šalyje).

Šiuose informaciniuose lapeliuose kaip dešimtainės trupmenos skyrikliis visada naudojamas taškas, skiriantis sveikąjį skaičių nuo dešimtainės trupmenos skaitmenų. Tūkstančių skyrikliai nenaudojami.

Simboliai

Be išvardytų standarte ISO 15223-1, Roche Diagnostics taip pat naudoja šiuos simbolius ir ženklus.

CONTENT	Rinkinio turinys
SYSTEM	Analizatoriai/instrumentai, su kuriais gali būti naudojami reagentai
REAGENT	Reagentas
CALIBRATOR	Kalibratorius



Cortisol

cobas®



Tūris po atskiedimo arba maišymo

Reikšmingi papildymai ar pakeitimai yra pažymėti pakeitimų juosta parašėje.

© 2013, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

