

Aplikačné poznámky pre Cystatín C Imunoanalýza na systémoch IMMAGE®800 Beckman Coulter®

Používanie Súpravy Gentian Cystatín C Reagencia A52761 a Používateľsky definovaných kaziet na reagencie IMMAGE

Určené použitie

Cystatín C Imunoanalýza na systémoch IMMAGE® Beckman Coulter® je diagnostický test *in vitro* na kvantitatívne určenie cystatínu C v ľudskom sére a plazme. Meranie cystatínu C sa používa pri diagnostike a liečbe ochorení obličiek.

Súhrn a vysvetlenie testu

Cystatín C je neglykozylovaný bázický proteín (molekulová hmotnosť 13,2 kD) produkovaný konštantnou rýchlosťou v takmer každej jadrovej bunke v ľudskom tele [1]. Je voľne filtrovaný normálnou glomerulárnou membránou a následne je reabsorbovaný a takmer úplne katabolizovaný v proximálnych tubuloch. Preto koncentrácia cystatínu C v ľudskej krvi je úzko spojená s rýchlosťou glomerulárnej filtrácie (GFR) [2]. Zníženie GFR spôsobuje nárast koncentrácie cystatínu C. Nepreukázalo sa, že koncentrácia cystatínu C je významne ovplyvnená inými faktormi, ako je svalová hmota, zápalové ochorenia, pohlavie, vek alebo strava [2, 3, 4].

Normalizácia kalibrátora

Gentian Cystatín C Kalibrátor je normalizovaný voči medzinárodnej norme pre kalibrátory ERM-DA471/IFCC.

Predikčný výpočet GFR

Bolo publikovaných niekoľko predikčných rovníc založených na cystatíne C na výpočet GFR pre dospelých a deti. Treba poznamenať, že tieto vzorce boli hodnotené pomocou rôznych analýz cystatínu C (časticová nefelometrická imunoanalýza PENIA alebo časticová turbidimetrická imunoanalýza PETIA) a v prípade použitia nevhodnej kombinácie vzorca a analýzy môžu ukazovať nepresné výsledky GFR. Na výpočet GFR z hodnôt cystatínu C nameraných pomocou analýzy Gentian sa odporúča nasledujúca predikčná rovnica využívajúca ako jednotkový faktor mg/l [5]: Rovnica platí pre osoby staršie ako 14 rokov.

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

Princíp analýzy

Vzorka séra alebo plazmy z človeka je zmiešaná s imunočasticami cystatínu C. Cystatín C zo vzorky a protilátka proti cystatínu C z imunočastic agregujú. Vytvorené komplexné častice absorbujú svetlo a pomocou turbidimetrie je absorpcia vzťahovaná ku koncentrácii cystatínu C prostredníctvom interpolácie na stanovenej štandardnej kalibračnej krivke. Platformy IMMAGE® automaticky vypočítajú výsledky.

Reagencie poskytnuté v súprave reagencií

Reakčný pufer 1 (R1)

Reakčný pufer Cystatín C, 1 fľaštička s obsahom 100 ml. R1 je salinizovaný puferovaný roztok MOPS [3-(N-morfolino)-propánsulfónovej kyseliny], konzervovaný azidom sodným (0,09 % (w/v)). Pufer je v stave pripravenom na použitie.

Reakčný pufer 2 (R2):

Cystatín C Imunočastice C, 2 fľaštičky s obsahom 10 ml. R2 obsahuje imunočastice, čo je prečistená imunoglobulínová frakcia, ktorá je nasmerovaná proti cystatínu C a ktorá je kovalentne naviazaná na homogénne polystyrénové častice. V procese generovania imunočastic bol ako imunogén použitý ľudský cystatín C. Dodáva sa ako suspenzia pripravená na použitie, konzervovaná 0,09 % (w/v) azidom sodným a antibiotikami.

Položky zahrnuté v Predajnej skupine CYSX IMMAGE REF B69746:	
Súprava Gentian Cystatín C Reagencia	REF A52761
Používateľsky definovaná kazeta na reagencie (balenie 10 ks)	REF 447250
Viečka proti odparovaniu (balenie 20 ks)	REF 447170
Požadované položky (nezahrnuté):	
Súprava Gentian Cystatín C Kalibrátor (6 x 1 ml)	REF A52763
Súprava Gentian Cystatín C Kontrola, Nízka a Vysoká (2 x 1 ml)	REF A52765

Výstrahy a preventívne opatrenia

1. Tento test je určený výlučne na použitie *in vitro* a musí s ním narábať kvalifikovaný personál.
2. Reagencie obsahujú antibiotiká a musí sa s nimi narábať s náležitou obozretnosťou.
3. Reagencie obsahujú konzervačný prostriedok azid sodný a musí sa s nimi narábať s náležitou obozretnosťou: Nepoživajte ani neumožnite kontakt s pokožkou alebo sliznicami. Koncentrácia azidu sodného tohto výrobku nie je charakterizovaná ako nebezpečná. Nahromadený NaN_3 v olovených a medených potrubíach však môže spôsobiť vytváranie výbušných kovových azidov. Kvôli zabráneniu uvedenému uskutočnite po vypustení do odtoku prepláchnutie veľkým prúdom vody.
4. Imunočastice obsahujú látky živočíšneho pôvodu. Likvidáciu zahodených materiálov treba uskutočniť v súlade s miestnymi požiadavkami.
5. Sérum používané pri výrobe kalibrátorov a kontrol bolo testované na hepatitídu HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 a anti-HIV2 s negatívnym výsledkom. Napriek tomu, materiály obsahujú látky ľudského a živočíšneho pôvodu, a preto sa s nimi musí narábať s náležitou obozretnosťou. Likvidáciu zahodených materiálov treba uskutočniť v súlade s miestnymi požiadavkami.

Uchovávanie a stabilita reagencie

Skladovateľnosť neotvorených reagencií pri 2 – 8 °C: Pozri dátum expirácie na etikete. Stabilita po otvorení: Do dátumu expirácie pri používaní tvrdých viečok pri 2 – 8 °C. Stabilita počas používania: 28 dní pri používaní viečok proti odparovaniu. Výrobky s dátumami expirácie uvedenými vo formáte rok a mesiac expirujú v posledný deň uvedeného mesiaca.

Odber vzoriek a narábanie s nimi

Požadovaný materiál vzorky je ľudské sérum alebo EDTA/heparinizovaná plazma. Odporúča sa analyzovať vzorky čo najčerstvejšie. Testovanie stability vzorky však ukázalo, že cystatín C vo vzorkách séra a plazmy je stabilný po dobu 26 dní pri izbovej teplote (8 – 25 °C) alebo 26 dní, keď sa uchováva pri teplote 2 – 8 °C. Navyše, bolo publikované, že vzorky je možné uchovávať pri menej ako -20 °C po dobu až 10 rokov [6]. Vzorky pred analyzovaním dobre premiešajte.

Postup analýzy

Aplikačné poznámky/Inštalácia analýzy

Podrobný zoznam parametrov prístroja je k dispozícii v oddieli „Parametre prístroja“ nižšie. Aplikačná poznámka je tiež k dispozícii na:

www.gentian.no. Nastavenie prístroja, údržba, prevádzka a preventívne opatrenia musia byť vykonávané v súlade s návodmi prístrojov IMMAGE® Beckman Coulter®.

Príprava reagentie

Reagencia sa dodáva v stave pripravenom na prenos do kazety na reagentie IMMAGE. Preneste obsah reagentie 1 a reagentie 2 do príslušných priehradiek Používateľsky definovanej kazety tak, ako je uvedené v tabuľke a počas používania aplikujte viečka proti odparovaniu. Dávajte pozor, aby nedošlo ku kontaminácii. Keď sa reagentie nepoužívajú, mali by sa uchovávať s originálnymi tvrdými viečkami pri 2 – 8 °C.

Súprava Cystatín C	Priehradka A	Priehradka B
R1, Reagenčný pufer	-	8,5 ml
R2, Imunočastice	1,5 ml	-

Stanovenie kalibračnej krivky

Použite štandardy 1 až 6 na stanovenie 6-bodovej štandardnej krivky, ako je definované v príručkách prístroja systémov IMMAGE® Beckman Coulter®. Hodnoty kalibrátora sú závislé od šarže a pri použití novej kalibračnej šarže sa vždy musí vykonať nová kalibrácia. Priradené hodnoty kalibrátora sú dané na liste analytických hodnôt poskytnutých s kalibrátorom. Každé 4 týždne by sa mala vykonať nová kalibrácia.

Kontroly QC

Nízke a vysoké kontroly sa musia analyzovať každý deň predtým, než sa analyzujú akékoľvek vzorky, aby sa validovala kalibračná krivka. Kontroly majú priradený rozsah hodnoty, ktorý musí byť splnený pred meraním vzoriek. Priradené hodnoty sú dané v liste analytických hodnôt, ktorý je priložený k súprave Gentian Cystatín C Kontrola. Ak hodnoty kontroly nie sú platné, zopakujte kontrolné merania. Ak nie je možné vykonať bezchybnú kalibráciu alebo nie je možné reprodukovať platné hodnoty kontroly, kontaktuje Beckman Coulter® pre získanie podpory.

Meranie vzoriek od pacientov

Keď bola vykonaná platná kalibrácia a hodnoty kontroly sa nachádzajú v rámci platného rozsahu, vzorky séra alebo plazmy sa môžu merať. Skontrolujte, či je prítomný minimálny objem vzorky a analyzujte vzorky podľa pokynov daných v príručkách prístroja systémov IMMAGE® Beckman Coulter®.

Výsledky

Výsledky vypočítavajú automaticky systémy IMMAGE® Beckman Coulter®. Výsledky sú prezentované v mg/l.

Obmedzenia

Materiály by sa nemali používať po dátume expirácie.

Rozsah merania

Rozsah merania cystatínu C pre analýzu je približne 0,4 – 8,0 mg/l. Presný rozsah je závislý od nastavených bodov kalibrátora čísla šarže Súpravy Gentian Cystatín C Kalibrátor.

Referenčné intervaly

Gentian sa pri určení prenositeľnosti referenčného intervalu riadi smernicou CLSI C28-A2; *Ako definovať a určiť referenčné intervaly v klinickom laboratóriu; Schválená smernica Druhé vydanie*. Referenčný interval je založený na štúdiu referenčného intervalu vykonanej v nemocnici vo Växjö, Švédsko, zahrňujúcej vzorky séra 138 subjektov vo veku 20 – 80 rokov, ktoré sa samotné deklarovali ako zdravé. Vzorky boli analyzované na cystatín C na platforme AU 2700. Referenčný interval bol vypočítaný neparametricky a určený na hodnotu 0,53 – 1,01 mg/l. Toto reprezentuje centrálnych 95 % celej testovanej populácie. Odporúča sa, aby každé laboratórium určilo lokálny referenčný interval, keďže hodnoty môžu kolísať v závislosti od testovanej populácie.

V samostatnej štúdiu zahrňujúcej 850 zdravých detí (46 % chlapcov, 54 % dievčat) vo veku od 5 do 15 rokov bol referenčný rozsah 0,51 – 1,05 mg/l potvrdený v každom veku až k 5 rokom [7].

Výkonové charakteristiky

Ak nie je uvedené inak, všetky štúdie boli vykonávané za použitia jednej šarže reagentií v jednom laboratóriu.

Presnosť

Gentian Cystatín C Imunoanalýza bola použitá v 3-dňovej presnej štúdiu navrhnutej v súlade s protokolom EP5-A CLSI. Na systéme IMMAGE 800* Beckman Coulter® boli odmerané štyri sérové pooly a 2 kontrolné úrovne.

ID	Priemerná hodnota (mg/l)	CV v rámci cyklu (%)	Celkové CV (%)	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

Lineárnosť

Gentian Cystatín C Imunoanalýza bola použitá v štúdiu lineárnosti na systéme IMMAGE 800, pričom bol pozorovaný lineárny rozsah 0,35 – 6,79 mg/l. Koncentrácie mimo tohto rozsahu neboli testované.

Analytická výťažnosť

Pomocou Gentian Cystatín C Imunoanalýza na prístroji IMMAGE 800 Beckman Coulter® bola pozorovaná výťažnosť 100 – 110 %.

Medza stanovenia

Pomocou analýzy Gentian Cystatín C na prístroji IMMAGE 800 bola dolná medza stanovenia odmeraná ako 0,24 mg/l.

Bezpečnostná zóna

V štúdiu na IMMAGE 800 s použitím analýzy Gentian Cystatín C bezpečnostná zóna pre nadbytok antigénu siahala až po 43 mg/l.

Interferencia

V štúdiu nebola vo vzorkách cystatínu C zistená žiadna významná interferencia s hemoglobínom (8 g/l), intralipidom (16 g/l) alebo bilirubínom (800 mg/l). Štúdia interferencie bola navrhnutá v súlade s protokolom EP7-A od CLSI [8]. Predtým nebola zistená žiadna významná interferencia s testovanými liečivami, tak ako je odporúčané v publikácii od Sonntaga a Scholera [9]. Nie je prítomná žiadna interferencia reumatoidného faktoru pri Gentian Cystatín C Imunoanalýza, keďže protilátky boli vyrobené s použitím vtáčích protilátok (kurčatá) [10].

Variácia medzi prístrojmi

Bola odmeraná variácia medzi prístrojmi medzi Gentian Cystatín C na prístroji IMMAGE a na prístroji Hitachi 917 a výsledky boli analyzované pomocou Passingovej a Bablokovej regresnej analýzy:

Metódy	N	Rozsah vzoriek (mg/l)	Termín	Koeficient	95 % CI koeficientu
IMMAGE 800 verzus Hitachi 917	24	0,58 – 6,97	Intercept Sklon	0,08 1,01	0,05 – 0,11 0,99 – 1,03

Dodatočné informácie

Ak si želáte podrobnejšie informácie o systémoch IMMAGE®, pozrite si príslušnú systémovú príručku. Keďže Beckman Coulter® nevyrába reagentiu ani nevykonáva kontrolu kvality alebo iné testy na individuálnych šaržach, Beckman Coulter® nemôže byť zodpovedná za kvalitu získaných údajov, ktorá závisí od účinkovania reagentie, ľubovoľnej odchýlky medzi šaržami reagentie alebo zmien protokolu spôsobených výrobcom.

Prepravné poškodenie

Prosím, upovedomte vášho distribútora, ak tento výrobok bol obdržaný poškodený. Ak si želáte technickú pomoc, prosím, kontaktujte vášho miestneho zástupcu Beckman Coulter®. Ak si želáte iný jazyk, navštívte: <http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

Kľúč k symbolom



Číslo šarže



Teplotný limit



Dátum spotreby



Pozrite si návod na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro



Pozor



Biologické riziká

Bibliografia

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; dokument EP7-A; Testovanie interferencie v klinickej chémii; Schválená smernica.
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001; 38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993; 72 :1807-1812.



Gentian AS **CE**

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Nórsko

TEL.: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

Nastavenia prístroja pre imunoanalýzu cystatínu C na systémoch IMMAGE Beckman Coulter®* (IMMAGE 800)

Strana 1

Názov testu: cysx

Jednotka: mg/l

Číslo šarže reagensie: *

Protokol: Nekompetitívna NIPIA

Číslo kazety: **

Dátum espirácie reagensie: *

Číslo série reagensie: **

Testy na šaržu: 40

Limit AGXS:

AGXS aktivované:

Strana 2

Pufer: BUF10

Diluent: DIL10

Objem vzorky: 5 µl

Riedenie kalibrátora: 1:1

Objem reakčného pufru: 0 µl

Riedenie vzorky: 1:1

Objem reagensie A: 30 µl

Reakčný čas: 5 minút

Objem reagensie B: 195 µl

Strana 3:

Úroveň kalibrátora

Úrovne: 6

Úroveň 1: *

Replikáty: 2

Úroveň 2: *

Aktualizácia úrovne: 3

Úroveň 3: *

Replikáty: 2

Úroveň 4: *

Typ kalibrácie: 3. stupeň polynóm

Úroveň 5: *

Úroveň 6: *

Sklon a posun (v rámci „Reagensia a kalibrácia“)

Faktor a (a·x + b): 1,10

Presuňte Gentian Cystatín C Pufer Analýzy do priehradky B a Gentian Cystatín C Imunočastice do priehradky A. Maximálny objem priehradky „A“ a „B“ kazety UDR je 8,5 ml. Preto maximálny počet testov naložených do kazety je približne 40 testov.

* Závislé od šarže

** Definované používateľom