

Enzian-Cystatin-C-Immunoassay auf dem Beckman Coulter Synchron UniCel System

REF A52761

Verwendungszweck

Der Gentian Cystatin C Immunoassay auf dem Beckman Coulter® Synchron UniCel System ist ein diagnostischer in-vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Cystatin C in Humanserum und Plasma durch professionelle Anwender. Die Messung von Cystatin C wird bei der Diagnose und Behandlung von Nierenerkrankungen eingesetzt.

Hinweis zur Verwendung

Die Messung von Cystatin C dient zur Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate (eGFR) der Nieren des Patienten. Die eGFR dient dazu, die Nierenfunktion des Patienten zu bestimmen und eine chronische Nierenerkrankung (CKD) zu diagnostizieren.

Kurzbeschreibung des Tests

Das nicht-glykosylierte Basisprotein Cystatin C (Molekulargewicht 13,2 kD) wird in nahezu jeder kernhaltigen Zelle des menschlichen Körpers mit konstanter Geschwindigkeit produziert [1]. Es passiert normale glomeruläre Basalmembranen ungehindert, wird dann reabsorbiert und in den proximalen Tubuli fast komplett abgebaut. Daher ist die Konzentration von Cystatin C im menschlichen Blut ein guter Indikator der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) [2]. Eine Verringerung der GFR führt zu einer Steigerung der Cystatin-C-Konzentration. Andererseits hat sich gezeigt, dass die Cystatin-C-Konzentration kaum von anderen Faktoren wie Muskelmasse, Entzündungserkrankungen, Geschlecht, Alter oder Ernährungsweise beeinflusst wird [2, 3, 4].

Kalibratorstandardisierung

Der Gentian Cystatin C Calibrator ist gemäß dem internationalen Kalibratorstandard ERM-DA471/IFCC standardisiert.

GFR-Voraussageberechnung

Es wurden mehrere Voraussagegleichungen zur Berechnung der GFR bei Erwachsenen und Kindern auf der Grundlage der Cystatin-C-Konzentration veröffentlicht. Es sei darauf hingewiesen, dass diese Formeln mit unterschiedlichen Cystatin-C-Assays (partikelverstärkte nephelometrische Immunoassays PENIA oder partikelverstärkte turbidimetrische Immunoassays PETIA) evaluiert wurden und zu fehlerhaften GFR-Ergebnissen führen können, wenn unpassende Formel- und Assay-Kombinationen verwendet werden. Zur Berechnung der GFR durch mit dem Gentian-Assay ermittelten Cystatin-C-Werten wird folgende Voraussagegleichung mit mg/l als Messeinheit empfohlen [5]: Diese Gleichung gilt für Personen über 14 Jahren.

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

Assay-Prinzip

Eine Serum- oder Plasmaprobe vom Menschen wird mit Cystatin C-Immunpartikeln gemischt. Cystatin C aus der Probe aggregiert mit Anti-Cystatin-C-Antikörpern aus der Immunpartikellösung. Die erzeugten komplexen Partikel absorbieren Licht, und durch Trübungsmessung wird die Absorption mit der Cystatin-C-Konzentration durch Interpolation auf einer etablierten Standardkalibrierungskurve in Beziehung gesetzt.

Testreagenzien

Lieferumfang	
Gentian Cystatin C-Reagenzienkit für Synchron- und UniCel-Systeme	REF A52761
Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien	
Gentian Cystatin-C-Kalibratorkit, Niveau 1 - 6, Ampullen mit je 1 ml	REF A52763
Gentian Cystatin-C-Kontrollkit, obere und untere Kontrollwerte, Ampullen mit je 1 ml	REF A52765
Benutzerdefinierte Reagenzpatrone (12er-Pack)	REF 442835

Zusammensetzung

Reaktionspuffer 1 (R1): R1 ist eine MOPS [3-(N-Morpholino)-Propansulfonsäure]-gepufferte Kochsalzlösung, konserviert mit Natriumaziden (0,09 % (w/v)). Dieser Puffer ist gebrauchsfertig.

Reaktionspuffer 2 (R2): R2 enthält Immunpartikel, d.h. eine gereinigte Immunglobulinfraktion, die gegen Cystatin C gerichtet ist, das kovalent an einheitliche Polystyrolpartikel gebunden ist. Zur Erzeugung der Immunpartikel wurde menschliches Cystatin C als Immunogen verwendet. Es wird als gebrauchsfertige Suspension geliefert, konserviert mit 0,09 % (w/v) Natriumazid und Antibiotika.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Dieser Test ist nur für den *In-vitro-Gebrauch* bestimmt und muss von qualifiziertem Personal durchgeführt werden.
- Die Reagenzien enthalten Antibiotika und müssen mit der gebotenen Vorsicht behandelt werden.
- Die Immunpartikel, Kalibratoren und Kontrollen enthalten potenziell infektiöse Substanzen tierischen und menschlichen Ursprungs und sollten mit der gebotenen Vorsicht gehandhabt werden. Entsorgen Sie alle ausgedienten Materialien in Übereinstimmung mit den örtlichen Anforderungen.
- Benutzen Sie das Material nur für Anwendungen, die von Gentian AS validiert und genehmigt wurden.
- Natriumazid enthaltende Reagenzien müssen mit der gebührenden Vorsicht gehandhabt werden: Nehmen Sie sie nicht ein und lassen Sie sie nicht mit Haut oder Schleimhäuten in Berührung kommen. Die Natriumazid-Konzentration dieses Produkts wird nicht als gefährlich eingestuft. Doch kann in Blei- oder Kupferrohren angesammelte NaN_3 explosive Metallazide bilden. Daher sollte beim Ausschütten in den Ablauf mit reichlich Wasser nachgespült werden.
- MOPS-haltige Reagenzien können Augen- und Hautreizungen verursachen. Gehen Sie mit der gebotenen Vorsicht vor.
- R2 enthält Polystyrol-Nanopartikel.
- Vermeiden Sie die Verwendung von stark lipämischen, ikterischen oder hämolytischen Proben.
- Mischen Sie keine Reagenzien verschiedener Reagenzienchargen und tauschen Sie keine Kappen zwischen den Reagenzien aus.

Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Haltbarkeit der ungeöffneten Reagenzien bei 2 - 8 °C: Siehe Verfallsdatum auf dem Etikett. Haltbarkeit nach dem Öffnen: 9 Wochen bei 2 - 8 °C. Haltbarkeit im Instrument: 4 Wochen bei korrekter Temperatur (2 - 8 °C).

Probennahme und -handhabung

Das notwendige Probenmaterial ist menschliches Serum oder EDTA-/heparinisiertes Plasma. Die Proben sollten so frisch wie möglich analysiert werden. Probenstabilitätsuntersuchungen zeigten jedoch, dass Cystatin C in Serum- und Plasmaproben bei Raumtemperatur (8 - 25 °C) oder bei Lagerung bei 2 - 8 °C 26 Tage sowie bei Lagerung unter -70 °C mindestens 5 Jahre lang stabil ist. Mischen Sie die Proben vor der Analyse gut durch. Die Proben können ohne besondere Kühlung versandt werden und müssen dann innerhalb von 14 Tagen nach dem Versand analysiert werden.

Messbereich

Der Messbereich von Cystatin C für den Assay liegt bei etwa 0,4 und 8,0 mg/l. Der genaue Bereich hängt vom chargenspezifischen Kalibratorwert ab, der auf dem Analysewertblatt angegeben ist.

Testverfahren

Anwendungshinweise

Weiter unten im Abschnitt Instrumentenparameter finden Sie eine detaillierte Liste der Instrumentenparameter. Der Anwendungshinweis ist auch verfügbar auf: www.gentian.com. Einrichten, Wartung, Betrieb und Vorsichtsmaßnahmen für das Instrument müssen in Übereinstimmung mit dem Instrumentenhandbuch des Beckman Coulter Synchron UniCel-Systems erfolgen.

Vorbereitung der Reagenzien

Das Reagenz wird gebrauchsfertig geliefert. Überführen Sie den Inhalt von Reagenz 1 und Reagenz 2 in das entsprechende Kompartiment der anwenderdefinierten Kartusche, wie in der folgenden Tabelle dargestellt. Seien Sie vorsichtig, um Kontamination zu vermeiden. Bei Nichtverwendung sollten die Reagenzien gut verschlossen bei 2 - 8 °C gelagert werden.

Cystatin C-Kit	Kompartiment A	Kompartiment B
R1, Reagenzpuffer	25 ml	-
R2, Immunopartikel	-	5 ml

Festlegung der Kalibrationskurve

Verwenden Sie die Standards 1 bis 6, um eine in den Gerätehandbüchern des Beckman Coulter Synchron UniCel-Systems definierte 6-Punkt-Standardkurve zu erstellen. Die Kalibratorwerte sind chargenabhängig und eine neue Kalibrierung muss immer dann durchgeführt werden, wenn eine neue Kalibriercharge verwendet wird. Die dem Kalibrator zugewiesenen Werte sind auf dem mit dem Kalibrator gelieferten Analysewertblatt angegeben. Das Beckman Coulter Synchron UniCel-System muss alle 2 Wochen neu kalibriert werden.

QC-Kontrolle

Die Gentian Cystatin C-Hoch- und -Tiefbereichskontrollen müssen jeden Tag vor Durchführung jeglicher Analyse ausgeführt werden, um die Kalibrierkurve zu validieren. Die Kontrollen haben einen zugewiesenen Wertebereich, der vor der Messung der Proben eingehalten werden muss. Die zu erfüllenden Werte gehen aus dem mit dem Gentian-Cystatin-C-Kontrollkit mitgelieferten analytischen Werteblatt hervor. Sind die Kontrollwerte nicht stimmig, müssen die Kontrollmessungen wiederholt werden. Kann die Kalibrierung nicht fehlerfrei durchgeführt oder können die Kontrollwerte nicht erzielt werden, wenden Sie sich an den Kundendienst von Beckman Coulter.

Patientenproben messen

Nach gültiger Kalibrierung und Erzielen von im gültigen Bereich liegenden Kontrollwerten können Serum- oder Plasmaproben analysiert werden. Nach Prüfen, dass das Probenmindestvolumen vorhanden ist, analysieren Sie die Proben gemäß der Anleitung im Instrumentenhandbuch des Beckman Coulter Synchron UniCel-Systems.

Ergebnisse

Die Ergebnisse werden vom Beckman Coulter Synchron UniCel-System automatisch berechnet. Die Ergebnisse werden in mg/l dargestellt.

Referenzintervalle

Gentian folgt der CLSI-Richtlinie, C28-A2 [7]; *Wie man Referenzintervalle im klinischen Labor definiert und bestimmt*, um die Übertragbarkeit des Referenzintervalls zu bestimmen. Das Referenzintervall basiert auf einer im Krankenhaus Växjö, Schweden, durchgeführten Referenzintervallstudie, die Serumproben von 136 selbstdeklarierten gesunden Probanden im Alter von 20 bis 80 Jahren umfasst. Die Proben wurden auf der Plattform AU 2700 auf Cystatin C analysiert. Das Referenzintervall wurde nichtparametrisch berechnet und mit 0,53 - 1,01 mg/l bestimmt. Dies entspricht den zentralen 95 % der getesteten Gesamtbevölkerung. Es wird empfohlen, dass jedes Labor ein lokales Referenzintervall festlegen sollte, da die Werte je nach der getesteten Population variieren können.

Einschränkungen

Die Materialien sollten nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

Leistungsmerkmale

Die Studien basieren auf Messungen mit Synchron UniCel DxC 800PRO an einem Instrumentenstandort mit einer Charge Reagenzien, sofern nicht anders angegeben.

Genauigkeit

Der Enzian-Cystatin-C-Immunoassay wurde in einer nach dem CLSI-Protokoll EP5-A konzipierten 5-Tages-Präzisionsstudie auf dem UniCel DxC eingesetzt. Drei Serumpools und 2 Kontrollniveaus wurden auf dem DxC-Gerät mit Rekalibrierung zwischen den Tagen gemessen.

Probe	Median (mg/l)	Innerhalb eines Laufs (CV%)	Zwischen Tagen (CV %)	Zwischen Läufen (CV %)	Gesamt-CV (%)
P1	1,12	1,72	2,13	5,08	5,77
P2	2,83	1,04	0,84	2,73	3,03
P3	5,79	3,33	2,40	2,38	4,75
P4	0,97	2,62	0,97	4,29	5,12
L (niedrig)	1,00	2,88	1,50	2,95	4,38
H (hoch)	3,90	1,67	0,58	2,36	2,95

Linearität

Gentian Cystatin C Immunoassay auf Synchron UniCel DxC ist linear im Bereich von 0,34 - 7,95 mg/l für UniCel DxC. Konzentrationen außerhalb dieses Bereichs wurden nicht getestet.

Analytische Wiederfindung

Für den Enzian-Cystatin-C-Immunoassay auf Synchron UniCel DxC kann eine Wiederfindung von 98 - 107% erwartet werden.

Quantifizierungsgrenze

Die Quantifizierungsgrenze wird definiert als die geringstmögliche tatsächliche Konzentration eines Analyten, die zuverlässig nachgewiesen werden kann und bei welcher der Gesamtfehler den Genauigkeitsanforderungen genügt. Der Enzian-Cystatin-C-Immunoassay auf einem Synchron UniCel DxC hat eine Quantifizierungsgrenze von 0,46 mg/l.

Sicherheitszone

Es wurde eine Studie mit dem Instrument Synchron LX20 durchgeführt, für die die Äquivalenz festgestellt wurde. Es wurde kein Hook-Effekt unter 25 mg/l festgestellt. Das Synchron UniCel DxC ist jedoch so programmiert, dass es keine Ergebnisse oberhalb der höchsten Kalibratorstufe meldet.

Interferenz

Das Synchron LX20-Instrument zeigt keine Interferenzen mit Triglyceriden (15 mmol/l), Hämoglobin (4 g/l), Intralipid (12 g/l) oder Bilirubin (200 mg/l). Mit den nach Empfehlung von Sonntag und Scholer [9] getesteten Medikamenten wurden keine Interferenzen festgestellt. Die Interferenzstudie wurde gemäß dem Protokoll EP7-A von CLSI [11] entworfen. Beim Enzian-Cystatin-C-Immunoassay gab es keine HF-Interferenzen, da die Antikörper von Geflügel stammen [10].

Instrumentenvariation und Methodenvergleich

Folgende Tabelle zeigt die Instrumentenvariation zwischen Gentian Cystatin C auf Synchron LX20 und 1) UniCel DxC durch Passing-Bablok-Regressionsanalyse. Darüber hinaus zeigt die Tabelle einen Vergleich zwischen Enzian Cystatin C auf Synchron LX20 und 3) einem kommerziell erhältlichen nephelometrischen Assay mittels Passing-Bablok-Regressionsanalyse.

Methode	N	Bereichsp robe (mg/l)	Begriff	Koeffizient	95 % CI des Koeffizi- enten
LX20 vs. DxC	53	0,68 - 7,65	Schnittpunkt	0,03	-0,01 - 0,07
			Steigung	0,97	0,95 - 1,00
LX20 vs. BN ProSpec	51	0,87 - 7,46	Schnittpunkt	0,30	0,21 - 0,34
			Steigung	1,04	1,01 - 1,08

Weitere Informationen

Weitere detaillierte Informationen zum Synchron UniCel-System finden Sie in seinem Systemhandbuch.

Da Beckman Coulter weder das Reagenz herstellt noch Qualitätskontrollen oder andere Tests an einzelnen Chargen durchführt, kann Beckman Coulter nicht für die Qualität der erhaltenen Daten verantwortlich gemacht werden, die durch die Leistung des Reagenzes, Abweichungen zwischen den Chargen des Reagenzes oder Protokolländerungen durch den Hersteller verursacht werden können.

Information in anderen Sprachen finden Sie unter:

<https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

Zeichenerklärung



Chargennummer



Temperaturgrenze



Verfallsdatum



Siehe Gebrauchsanweisung



Hersteller



Katalognummer



Diagnostisches medizinisches *In-Vitro*-Gerät



Vorsicht



Biologische Gefahren



Gentian AS



Bjornasveien 5, N-1509 Moss, Norwegen

TEL.: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.com>

Versandschäden

Bitte benachrichtigen Sie Ihren Händler, wenn Sie dieses Produkt beschädigt erhalten sollten.

Literatur:

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 C28-A2; Reference Intervals in the Clinical Lab; Approved Guideline.
8. Nitsch D. et al: The Uppsala Family Stud. Am J Kidney Dis. 2011;57(6):863-872
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1
11. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.

Geräteparameter

Enzian-Cystatin-C-Immunoassay auf dem Beckman Coulter Synchron UniCel System

Nummer [] Chem [CYSX]

Chemische Parameter		Seite 1 von 3		
Art der Reaktion	[Rate 1]			
Einheit	[mg/l]			
Genauigkeit	[X,XX]			
Reaktionsrichtung	[Positiv]			
Mathematisches Modell	[8]			
Primäre Wellenlänge	[410]			
Sekundäre Wellenlänge	[700]			
Berechnungsfaktor	[1.000]			
Anzahl Kalibratoren	[6]			
Sollpunkte	1	[C]	4	[C]
	2	[C]	5	[C]
	3	[C]	6	[C]
Kalibrier-Zeitlimit	[336] Stunden			

Fehlererkennungsgrenzen		Seite 3 von 3		
Leerprobe	ABS Niedrig-/Hoch-Grenzen	[-1.500]/[2.200]		
	Rate Niedrig-/Hoch-Grenzen	[-1.500]/[2.200]		
	Mediane Abweichung	[2.200]		
Reaktion 1	ABS Niedrig-/Hoch-Grenzen	[-1.500]/[2.200]		
	Rate Niedrig-/Hoch-Grenzen	[-1.500]/[2.200]		
	Mediane Abweichung	[2.200]		
Reaktion 2	ABS Niedrig-/Hoch-Grenzen	[-1.500]/[2.200]		
	Rate Niedrig-/Hoch-Grenzen	[-1.500]/[2.200]		
	Mediane Abweichung	[2.200]		
Substraterschöpfung				
	Anfangsrate	[99,999]		
	Delta ABS	[2.200]		
Mehrpunktspanne				
	1 - 2	[0.001]	4 - 5	[0.001]
	2 - 3	[0.001]	[5 - 6]	[0.001]
	[3 - 4]	[0.001]	6 - 1	[0.001]

Prozessparameter		Seite 2 von 3	
Erste Injektion	Komponente	[A]	
	Abgabevolumen	[230] µl	
Zweite Injektion	Komponente	[Keine]	
	Abgabevolumen	[]	
	Injektionszeit	[]	
Dritte Injektion	Komponente	[B]	
	Abgabevolumen	[45] µl	
	Injektionszeit	[80] Sek.	
Probenvolumen	[5] µl		
ORDAC-Volumen	[Keins] µL		
Leerprobe	Lesebeginn	[56] Sek.	
	Leseende	[72] Sek.	
Beginn	Lesebeginn	[81] Sek.	
	Leseende	[96] Sek.	
Reaktion 1	Lesebeginn	[90] Sek.	
	Leseende	[154] Sek.	
Reaktion 2	Lesebeginn	[] Sek.	
	Leseende	[] Sek.	
Nutzbarer Ergebnisbereich			
	Untere Grenze	[0,4]	
	Obere Grenze	[8,0]	
ORDAC			
	Untere Grenze	[]	
	Obere Grenze	[]	