

Imunologické stanovenie cystatínu C Gentian na systéme Synchron UniCel od Beckman Coulter

REF A52761

Určené použitie

Imunologické stanovenie cystatínu C Gentian na systémoch Synchron UniCel od Beckman Coulter® je diagnostický test in vitro na kvantitatívne stanovenie odborníkmi úrovne cystatínu C v ľudskom sére a plazme. Meranie cystatínu C sa používa na diagnostikovanie a liečbu ochorení obličiek.

Indikácia na použitie

Meranie cystatínu C sa môže používať pre odhad miery glomerulárnej filtrácie (eGFR) obličiek pacienta. Hodnota eGFR sa používa na stanovenie funkcie obličiek a diagnostiku chronických ochorení obličiek (CKD).

Súhrnné objasnenie testu

Neglykozylovaný bázický proteín, cystatín C (molekulová hmotnosť 13,2 kD), sa produkuje konštantnou rýchlosťou takmer v každej bunke v ľudskom tele, obsahujúcej jadro [1]. Voľne sa filtruje cez normálnu glomerulárnu membránu a potom sa znova absorbuje a takmer úplne katabolizuje v proximálnych tubuloch. Z tohto dôvodu koncentrácia cystatínu C v ľudskej krvi úzko súvisí s glomerulárnou filtračnou rýchlosťou (GFR) [2]. Zníženie GFR spôsobuje rast koncentrácie cystatínu C. Neukázalo sa, že by koncentrácia cystatínu C bola významne ovplyvnená inými faktormi, ako sú svalová hmota, zápalové choroby, pohlavie, vek alebo strava [2, 3, 4].

Štandardizácia kalibrátora

Kalibrátor cystatínu C spoločnosti Gentian je štandardizovaný podľa medzinárodnej normy pre kalibrátor ERM-DA471/IFCC.

Predikčný výpočet GFR

Bolo publikovaných niekoľko predikčných rovníc GFR na báze cystatínu C pre dospelých a deti. Treba poznamenať, že tieto vzorce boli hodnotené rôznymi stanoveniami cystatínu C (časticovým nefelometrickým imunologickým stanovením PENIA alebo časticovým turbidimetrickým stanovením PETIA) a môžu odhaliť nepresné výsledky GFR, ak sa použije nevhodná kombinácia vzorca a stanovenia. Na výpočet GFR z hodnôt cystatínu C nameraných stanovením od spoločnosti Gentian sa odporúča použiť nasledujúca predikčná rovnica s použitím mg/l ako jednotkového faktora [5]: Táto 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 stanovenia

Vzorka ľudskeho séra alebo plazmy sa mieša s imunočasticami cystatínu C. Cystatín C zo vzorky sa zlučuje s protilátkami proti cystatínu C z roztoku imunočastíc. Vytvorené častice komplexu absorbujú svetlo a absorpcia podľa turbidimetrie súvisí s koncentráciou cystatínu C prostredníctvom interpolácie na vytvorenej štandardnej kalibračnej krivke.

Používané činidlá

Obsiahnuté položky:	
Súprava činidiel Gentian Cystatin C pre systémy Synchron a UniCel	REF A52761
Potrebne ale neposkytnuté materiály	
Kalibračná súprava Gentian Cystatin C, úroveň 1-6, fľaštičky po 1 ml	REF A52763
Súprava kontrolných vzoriek Gentian Cystatin C s nízkou a vysokou koncentráciou, fľaštičky 1 ml	REF A52765
Používateľom definované zásobníky (bal. 12 ks)	REF 442835

Zloženie

Reakčný pufo 1 (R1): R1 je MOPS fyziologický roztok pufovaný [kyselinou 3-(N-morfolino)-propán-sulfónovou], konzervovaný azidom sodným (0,09 % (hm./obj.)). Pufo je pripravený na použitie.

Reakčný pufo 2 (R2): R2 obsahuje imunočastice, ktoré sú čistenou imunoglobulínovou frakciou zameranou proti cystatínu C, ktorá je kovalentne viazaná k jednotným polystyrénovým časticiam. Ľudský cystatín C bol použitý ako imunogén v procese tvorby imunočastíc. Poskytuje sa ako suspenzia pripravená na použitie, konzervovaná azidom sodným 0,09 % (hm./obj.) a antibiotikami.

Varovania a preventívne opatrenia

- Tento test je určený len na použitie *in vitro* a musí s ním pracovať výhradne kvalifikovaný personál.
- Činidlá obsahujú antibiotiká a musí sa s nimi zaobchádzať s náležitou opatrnosťou.
- Imunočastice, kalibrátory a kontrolné vzorky obsahujú potenciálne infekčné látky živočíšneho a humánneho pôvodu a musí sa s nimi manipulovať s náležitou starostlivosťou. Likvidácia odpadového materiálu musí byť v súlade s lokálnymi požiadavkami.
- Používajte len nástroje overené a schválené spoločnosťou Gentian AS.
- Činidlá obsahujú azid sodný a musí sa s nimi zaobchádzať s náležitou opatrnosťou: Nepožívajte ich ani nedovoľte styk s pokožkou alebo sliznicami. Koncentrácia azidu sodného v tomto produkte nie je charakterizovaná ako nebezpečná. Akumulovaný NaN_3 v olovenom a medenom potrubí však môže spôsobovať tvorbu výbušných azidov kovov. Zabráňte tomu dôkladným spláchnutím pri vylievaní do výlevky.
- Činidlá s obsahom MOPS môžu dráždiť oči a pokožku. Manipulujte s náležitou starostlivosťou.
- R2 obsahuje nanočastice polystyrénu.
- Vyvarujte sa použitiu vysoko lipemických, ikterických alebo hemolytických vzoriek.
- Činidlá jednotlivých dávok činidiel nemiešajte ani nezamieňajte veká medzi činidlami.

Uchovávanie a stálosť činidiel

Doba použiteľnosti neotvorených činidiel pri teplote 2 – 8 °C: pozrite si dátum expirácie na štítku. Stálosť po otvorení: 9 týždňov pri 2 – 8 °C. Doba stálosti v prístroji: 4 týždne pri správnej teplote (2 – 8 °C).

Odber vzoriek a zaobchádzanie s nimi

Materiál potrebný na vzorky je ľudské sérum alebo EDTA/heparinizovaná plazma. Odporúča sa analyzovať čo najčerstvejšie vzorky. Testovanie stálosti vzoriek ukázalo, že vzorky cystatínu C v sére a plazme sú stále 26 dní pri izbovej teplote (8 – 25 °C), 26 dní v prípade uchovávaní pri teplote 2 – 8 °C, a v prípade skladovania pri nižšej teplote ako -70 °C na aspoň 5 rokov [6]. Vzorky pred analyzovaním dobre premiešajte. Vzorky môžu byť zaslané bez osobitného chladenia a potom musia byť analyzované do 14 dní po doručení.

Rozsah meraní

Rozsah meraní cystatínu C v stanovení je približne 0,4 – 8,0 mg/l. Presný rozsah závisí od hodnoty kalibrátora typickej pre dávku podľa uvedeného na hárku analytických hodnôt.

Postup stanovenia

Poznámky k aplikácii

Podrobný zoznam parametrov prístroja nájdete v časti „Parametre prístroja“, ktorá nasleduje nižšie. Poznámky k aplikácii sú tiež dostupné na: www.gentian.com. Nastavenia, údržba a prevádzka prístrojov musia byť vykonávané v súlade s príručkami pre prístroje systémov Synchron a UniCel od Beckman Coulter.

Príprava činidiel

Činidlo sa dodáva hotové na použitie. Preneste obsah činidla 1 a činidla 2 do príslušnej priehradky užívateľom definovaného zásobníka tak, ako je to zobrazené v tabuľke uvedenej nižšie. Pracujte opatrne, aby ste sa vyhli kontaminácii. Ak sa činidlá nepoužívajú, musia sa uchovávať zatvorené uzávermi pri teplote 2 až 8 °C.

Súprava na stanovenie Cystatínu C	Priehradka A	Priehradka B
R1, pufovanie činidla	25 ml	-
R2, imunočastice	-	5 ml

Vytvorenie kalibračnej krivky

Na vytvorenie 6-bodovej štandardnej závislosti podľa definície v príručkách k prístrojom systému Synchron a UniCel spoločnosti Beckman Coulter použite štandardy 1 až 6. Hodnoty kalibrátorov závisia od šarží a nová kalibrácia sa musí vykonať vždy pri použití novej kalibračnej šarže. Priradené hodnoty kalibrátorov sú uvedené na hárku analytických hodnôt poskytnutom s kalibrátorom. Systém Synchron UniCel od Beckman Coulter si vyžaduje opakovanú kalibráciu každé 2 týždne.

Kontrolné vzorky pre kontrolu kvality

Kontrolné vzorky cystatínu C Gentian s nízkou a vysokou koncentráciou sa musia analyzovať každý deň pred použitím vzoriek, aby sa potvrdila kalibračná závislosť. Kontrolné vzorky majú priradený rozsah hodnôt, ktorý musia splniť pred meraním vzoriek. Priradené hodnoty kalibrátorov sú uvedené na hárku analytických hodnôt poskytnutom so súpravou kontrolných vzoriek cystatínu C od spoločnosti Gentian. Ak hodnoty kontrolných vzoriek nie sú platné, zopakujte merania kontrolných vzoriek. Ak sa kalibrácia nedá vykonať bez chyby alebo ak sa platné hodnoty kontrolných vzoriek nedajú reprodukovať, obráťte sa na spoločnosť Beckman Coulter, aby Vám poskytla podporu.

Meranie vzoriek pacientov

Ak bola vykonaná platná kalibrácia a hodnoty kontrolných vzoriek sú v platnom rozsahu, môžu sa merať vzorky séra alebo plazmy. Skontrolujte, či máte minimálny objem vzoriek a vzorky analyzujte podľa pokynov v príručkách systému Synchron UniCel od Beckman Coulter.

Výsledky

Výsledky vypočíta systém Synchron UniCel od Beckman Coulter automaticky. Výsledky sú v jednotkách mg/l.

Referenčné intervaly

Spoločnosť Gentian sa pri stanovení prenosnosti referenčného intervalu riadi podľa príručky CLSI, C28-A2 [7]; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory* (Ako definovať a určiť referenčné intervaly v klinickom laboratóriu); schválené druhé vydanie príručky. Referenčný interval je založený na štúdiu referenčných intervalov vykonanej v nemocnici Växjö, Švédsko, zahŕňajúcej vzorky séra od 136 zdravých (ako sami vyhlásili) subjektov vo veku 20 – 80 rokov. Vo vzorkách bol analyzovaný cystatín C s použitím platformy AU 2700. Referenčný interval bol vypočítaný neparametricky a bol stanovený na 0,53 – 1,01 mg/l. Toto predstavuje strednú hodnotu pre 95 % celého testovaného súboru. Odporúča sa, aby si každé laboratórium stanovilo lokálny referenčný interval, lebo hodnoty môžu závisieť od testovaného súboru.

Obmedzenia

Materiál sa nesmie používať po dátume expirácie.

Charakteristiky účinnosti

Štúdiu založenú na meraniach systému DxC 800PRO Synchron UniCel na jednom nástrojovom mieste s použitím jednej dávky činidiel, pokiaľ sa neuvedie inak.

Presnosť

Imunoanalytickej súpravy Gentian Cystatin C bolo použité v 5-dňovej štúdiu presnosti na DxC UniCel navrhnuté v súlade s protokolom EP5-A CLSI. Na nástroji DxC boli merané tri súbory sér a 2 kontrolné úrovne s opakovanou kalibráciou medzi dňami.

Vzorka	Priemer (mg/l)	V rámci stanovenia (CV %)	Medzi dňami (CV %)	Medzi stanoveniami (CV %)	Celkový 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
N (nízka)	1,00	2,88	1,50	2,95	4,38
V (vysoká)	3,90	1,67	0,58	2,36	2,95

Lineárnosť

Imunologické stanovenie cystatínu C Gentian je lineárne v rozsahu 0,34 – 7,95 mg/l pre DxC UniCel. Koncentrácie mimo tohto rozsahu neboli testované.

Výťažnosť analýzy

Pri imunologickom stanovení cystatínu C Gentian na systéme DxC Synchron UniCel je možné očakávať výťažnosť 98 – 107 %.

Hranica kvantifikácie

Hranica kvantifikácie je definovaná takto: je to najnižšia koncentrácia analyzovanej látky, ktorú možno nádejne zistiť a pri ktorej celková chyba neprekračuje limitné požiadavky na presnosť. Imunologické stanovenie cystatínu C od spoločnosti Gentian na systéme DxC Synchron UniCel má hranicu kvantifikácie rovnú 0,46 mg/l.

Zóna bezpečnosti

Štúdiá sa uskutočnila na nástroji LX20 Synchron, pri ktorom sa stanovila ekvivalencia. Pod hodnotou 25 mg/l nebol zaznamenaný efekt hook. Systém DxC Synchron UniCel je však naprogramovaný nehlásiť žiadne výsledky nad najvyššiu úroveň kalibrátora.

Rušenie

Na nástroji LX20 nebolo zistené žiadne rušenie pri triglyceridoch (15 mmol/l), hemoglobíne (4 g/l), intralipide (12 g/l) alebo bilirubíne (200 mg/l). Nebolo zistené žiadne rušenie s liekmi testovanými na odporúčanie od Sonntag a Scholer [9]. Štúdia rušenia bola navrhnutá v súlade s protokolom EP7- A z CLSI [11]. V imunologickom stanovení cystatínu C od spoločnosti Gentian nebolo prítomné žiadne rádiofrekvenčné rušenie, pretože protilátky majú vtáčí pôvod [10].

Prístrojové odchýlky a porovnanie metód

Uvedená tabuľka zobrazuje prístrojové odchýlky medzi stanovením cystatínu C Gentian na systéme LX20 Synchron a 1) DxC UniCel pomocou Passingovej-Bablokovej regresnej analýzy. Okrem toho tabuľka zobrazuje porovnanie medzi stanovením cystatínu C Gentian na systéme LX20 Synchron a 3) komerčne dostupnou nefelometrickou analýzou pomocou Passingovej-Bablokovej regresnej analýzy.

Metóda	Č	Vzorka rozsahu (mg/l)	Výraz	Koeficient	95 % CI koeficientu
LX20 vs DxC	53	0,68 – 7,65	Úsek na osi y	0,03	-0,01 – 0,07
			Sklon	0,97	0,95 – 1,00
LX20 vs. BN ProSpec	51	0,87 – 7,46	Úsek na osi y	0,30	0,21 – 0,34
			Sklon	1,04	1,01 – 1,08

Ďalšie informácie

Podrobnejšie informácie o systéme Synchron UniCel nájdete v príručke príslušného systému.

Keďže spoločnosť Beckman Coulter nevyrába čidlo ani nevykonáva kontrolu kvality ani ďalšie testy na jednotlivých šaržach, spoločnosť Beckman Coulter nemôže zodpovedať za kvalitu získaných údajov, ktorá je ovplyvnená účinnosťou tohto čidla, odchýlkami medzi šaržami čidla alebo zmenami protokolu vykonávanými výrobcom.

Informácie v iných jazykoch nájdete na stránke:

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

Vysvetlenie symbolov



Číslo šarže



Teplotné obmedzenie



Dátum spotreby



Postupujte podľa návodu na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*



Pozor



Biologické riziká



Gentian AS



Bjornasveien 5, N-1509 Moss, Nórsko

TEL: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.com>

Poškodenie pri dodaní

Ak produkt dostanete poškodený, informujte o tom miestneho distribútora.

Referencie

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; Dokument C28-A2; Referenčné intervaly v klinickom laboratóriu; Schválené usmernenie.
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; Dokument EP7-A ; Testovanie rušenia v klinickej chémii; Schválené usmernenie.

Parametre nástrojov

Imunologické stanovenie cystatínu C Gentian na systéme Synchron UniCel od Beckman Coulter

Číslo [] Chem [CYSX]

Chemické parametre		Strana 1 z 3		
Typ reakcie	[miera 1]			
Jednotky	[mg/l]			
Presnosť	[X,XX]			
Smer reakcie	[pozitívne]			
Matematický model	[8]			
Primárna vlnová dĺžka	[410]			
Sekundárna vlnová dĺžka	[700]			
Faktor výpočtu	[1 000]			
Počet kalibrátorov	[6]			
Nastavovacie hodnoty	1	[C]	4	[C]
	2	[C]	5	[C]
	3	[C]	6	[C]
Časový limit výpočtu	[336] hodín			

Limity zaznamenania chyby		Strana 3 z 3		
Prázdne	Nízky/vysoký limit ABS	[-1,500]/[2,200]		
	Nízky/vysoký limit miery	[-1,500]/[2,200]		
	Priemerná odchýlka	2,200		
Reakcia 1	Nízky/vysoký limit ABS	[-1,500]/[2,200]		
	Nízky/vysoký limit miery	[-1,500]/[2,200]		
	Priemerná odchýlka	2,200		
Reakcia 2	Nízky/vysoký limit ABS	[-1,500]/[2,200]		
	Nízky/vysoký limit miery	[-1,500]/[2,200]		
	Priemerná odchýlka	2,200		
Vyčerpanie substrátu				
	Počiatočná miera	[99,999]		
	Delta ABS	2,200		
Viacbodový rozsah				
	1 – 2	[0,001]	4 – 5	[0,001]
	2 – 3	[0,001]	[5 – 6]	[0,001]
	3 – 4	[0,001]	6 – 1	[0,001]

Parametre spracovania		Strana 2 z 3
Prvé podanie	Zložka	[A]
	Pripravený objem	[230] µl
Druhé podanie	Zložka	[žiadne]
	Pripravený objem	[]
	Čas podania	[]
Tretie podanie	Zložka	[B]
	Pripravený objem	[45] µl
	Čas podania	[80] sek.
Objem vzorky	[5] µl	
Objem ORDAC	[žiadne] µl	
Prázdne	Začiatkový údaj	[56] sek.
	Konečný údaj	[72] sek.
Pôvodné	Začiatkový údaj	[81] sek.
	Konečný údaj	[96] sek.
Reakcia 1	Začiatkový údaj	[90] sek.
	Konečný údaj	[154] sek.
Reakcia 2	Začiatkový údaj	[] sek.
	Konečný údaj	[] sek.
Rozsah použiteľných výsledkov		
	Dolný limit	[0,4]
	Horný limit	[8,0]
ORDAC		
	Dolný limit	[]
	Horný limit	[]