

# Cystatin C



## Poznámky k použití imunoanalytické soupravy Cystatin C v systémech Beckman Coulter® IMMAGE® 800

Použití reagenční soupravy Cystatin C Reagent Kit A52761 a uživatelsky definovaných zásobníků na reagence IMMAGE

### Zamýšlený účel použití

Imunoanalýza Cystatin C v systémech Beckman Coulter® IMMAGE® je *in vitro* diagnostický test pro kvantitativní stanovení cystatinu C v lidském séru a plazmě. Měření cystatinu C se používá při diagnostice a léčbě onemocnění ledvin.

### Shrnutí a objasnění testu

Neglykosylovaný základní protein, cystatin C (molekulová hmotnost 13,2 kD), vzniká konstantní rychlostí v téměř každé nukleované buňce lidského těla [1]. Volně se filtruje přes normální glomerulární membránu, pak se reabsorbuje a je téměř úplně katabolizován v proximálních tubulech. Koncentrace cystatinu C v lidské krvi tudíž úzce souvisí s rychlostí glomerulární filtrace (GFR) [2]. Snížení GFR způsobuje zvýšení koncentrace cystatinu C. Neprokázalo se, že by byla koncentrace cystatinu C významně ovlivněna jinými faktory, jako je svalová hmota, zánětlivá onemocnění, pohyblivost, věk nebo strava [2, 3, 4].

### Standardizace kalibrátoru

Kalibrátor Gentian Cystatin C je standardizován srovnáním s mezinárodním standardem kalibrátoru ERM-DA471/IFCC.

### Výpočet predikce GFR

Pro výpočet predikce GFR u dospělých a dětí bylo publikováno několik rovnic založených na cystatinu C. Je třeba poznamenat, že tyto vzorce byly hodnoceny pomocí různých analýz cystatinu C (imunonefelometrie zesílená částicemi – metoda PENIA nebo turbidimetrická imunoanalýza zesílená částicemi – metoda PETIA) a při použití nevhodné kombinace vzorce a testu mohou dávat nepřesné výsledky GFR. Pro výpočet GFR z hodnot cystatinu C naměřených pomocí testu společnosti Gentian se pro výpočet predikce za použití jednotky mg/l jako jednotkového faktoru doporučuje následující rovnice [5]: Tato rovnice platí pro osoby starší 14 let.

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

### Podstata testu

Vzorek lidského séra nebo plazmy se smísí s imunočásticemi cystatinu C. Cystatin C ze vzorku a protilátky proti cystatinu C z imunočástic agregují. Vytvořené složité částice absorbují světlo a turbidimetrická absorpce odpovídá koncentraci cystatinu C interpolací na stanovené standardní kalibrační křivce. Platformy IMMAGE® automaticky vypočítají výsledky.

### Reagence poskytnuté v soupravě s reagenciemi

#### Reakční pufr 1 (R1)

Reakční pufr cystatinu C, 1 lahvička o objemu 100 ml. R1 je fyziologický roztok pufovaný látkou MOPS [kyselina 3-(N-morfolino)-propansulfonová], konzervovaný azidem sodným (0,09 % (hmotn./obj.)). Pufr je připravený k použití.

#### Reakční pufr 2 (R2):

Imunočástice cystatinu C, 2 lahvičky o objemu 10 ml. R2 obsahuje imunočástice, což je purifikovaná imunoglobulinová frakce, která je namířená proti cystatinu C a je kovalentně připojena na jednotné polystyrenové částice. V procesu výroby těchto imunočástic byl jako

imunogen použit lidský cystatin C. Dodává se jako suspenze připravená k použití, konzervovaná 0,09 % (hm./obj.) azidem sodným a antibiotiky.

Položky zahrnuté v balení CYSX IMMAGE, prodejní skupina REF B69746:	
Reagenční souprava Gentian Cystatin C	REF A52761
Uživatelsky definovaný zásobník na reagence (10 kusů v balení)	REF 447250
Víčka proti odpařování (20 kusů v balení)	REF 447170
Požadované (nezahrnuté) položky:	
Sada kalibrátorů cystatinu C (6 x 1 ml)	REF A52763
Sada kontrolních vzorků Gentian Cystatin C, nízké a vysoké koncentrace (2 x 1 ml)	REF A52765

### Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Tento test je určen pouze pro použití *in vitro* a musí jej provádět kvalifikovaný personál.
2. Reagence obsahují antibiotika a musí se s nimi zacházet opatrně.
3. Reagence obsahují konzervační látku azid sodný a musí se s nimi zacházet opatrně: Nekonzumujte a zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi. Koncentrace azidu sodného v tomto produktu není charakterizována jako nebezpečná. Nahromaděný NaN<sub>3</sub> v olověných a měděných trubkách ovšem může způsobit vznik výbušných azidů kovů. Aby se tomu zabránilo, po vypuštění do odpadu důkladně propláchněte.
4. Imunočástice obsahují látky živočišného původu. Likvidace všech odpadů by měla probíhat v souladu s místními předpisy.
5. Sérum použité při výrobě kalibrátorů a kontrolních vzorků bylo testováno na hepatitidu HBsAG, anti-HCV, anti-HIV1 a anti-HIV2 a bylo zjištěno, že je negativní. Materiály však obsahují látky lidského a živočišného původu a musí se s nimi zacházet s náležitou péčí. Likvidace všech odpadů by měla probíhat v souladu s místními předpisy.

### Skladování a stabilita reagencí

Doba použitelnosti neotevřených reagencí při teplotě 2–8 °C: Datum expirace je uvedeno na štítku. Stabilita po otevření: Do vypršení data expirace s použitím pevných víček při teplotě 2–8 °C. Stabilita při používání: 28 dnů při použití víček proti odpařování.

### Odběr a manipulace se vzorky

Požadovaným materiálem vzorku je lidské sérum nebo plazma ošetřená EDTA/heparinem. Vzorky doporučujeme analyzovat v co nejčerstvějším stavu. Testování stability vzorku nicméně ukázalo, že je cystatin C ve vzorcích séra a plazmy stabilní po dobu 26 dnů při pokojové teplotě (8–25 °C) nebo 26 dnů, když jsou vzorky skladovány při teplotě 2–8 °C. Dále bylo publikováno, že vzorky lze při teplotě pod -70 °C uchovávat po dobu až 5 let [6]. Před testováním vzorky dobře promíchejte.

### Postup testu

#### Poznámky k aplikaci / instalace testu

Podrobný seznam parametrů přístroje naleznete v části „Parametry přístroje“ níže. Poznámky k použití jsou k dispozici také na webové adrese: [www.gentian.com](http://www.gentian.com). Nastavení přístroje, údržba, provoz a bezpečnostní opatření musí být prováděny v souladu s manuály přístroje Beckman Coulter® IMMAGE®.

\* Registrovaná ochranná známka společnosti Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

## Příprava reagensí

Reagencie se dodávají připravené k přemístění do zásobníku na reagencie IMMAGE. V souladu s následující tabulkou přemístíte obsah reagensie 1 a reagensie 2 do příslušných oddílů uživatelsky definovaného zásobníku a při používání nasadíte víčka proti odpařování. Postupujte pečlivě, aby nedošlo ke kontaminaci. Reagencie by měly být, když se nepoužívají, uchovávány zakryté původními pevnými víčky při teplotě 2–8 °C.

Souprava Cystatin C	Oddíl A	Oddíl B
R1, reagensie, pufr	-	8,5 ml
R2, imunočástice	1,5 ml	-

## Stanovení kalibrační křivky

Pro stanovení 6bodové standardní křivky definované v manuálech přístroje Beckman Coulter® IMMAGE® Systems použijte standardy 1 až 6. Hodnoty kalibrátoru závisí na šarži a při použití nové kalibrační šarže je nutno provést novou kalibraci. Hodnoty přiřazené kalibrátoru jsou uvedeny na listu analytických hodnot dodaném s kalibrátorem. Nová kalibrace by se měla provádět jednou za 4 týdny.

## Kontroly QC

Za účelem ověření kalibrační křivky se musí každý den před analyzováním vzorků testovat kontrolní vzorky s nízkou a vysokou koncentrací. Kontrolním vzorkům je přiřazen rozsah hodnot, kterého se před měřením vzorků musí dosáhnout. Přiřazené hodnoty jsou uvedeny na listu analytických hodnot dodaném se sadou kontrolních vzorků Gentian Cystatin C. Pokud nejsou hodnoty kontrolních vzorků platné, zopakujte kontrolní měření. Pokud nelze kalibraci provést bez chyb nebo nelze reprodukovat platné hodnoty kontrolních vzorků, kontaktujte společnost Beckman Coulter®.

## Měření vzorků pacientů

Pokud byla provedena platná kalibrace a hodnoty kontrolních vzorků se nacházejí v rámci platného rozsahu, mohou se měřit vzorky séra nebo plazmy. Zkontrolujte, že máte minimální objem vzorku, a proveďte testování vzorků podle pokynů uvedených v manuálech přístroje Beckman Coulter® IMMAGE® Systems.

## Výsledky

Výsledky vypočítají systémy Beckman Coulter® IMMAGE® automaticky. Výsledky jsou uváděny v mg/l.

## Omezení

Materiály by se neměly používat po datu expirace.

## Rozsah měření

Rozsah měření cystatinu C je pro tento test přibližně 0,4–8,0 mg/l. Přesný rozsah závisí na nastavených hodnotách kalibrátoru daného čísla šarže v kalibrační soupravě Gentian Cystatin C.

## Referenční intervaly

Společnost Gentian postupuje podle pokynů CLSI Guideline, C28–A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition*, za účelem určení přenositelnosti referenčního intervalu. Referenční interval je založen na studii referenčního intervalu provedené v nemocnici Växjö ve Švédsku, s použitím vzorků séra od 136 jedinců ve věku 20 až 80 let, kteří o sobě prohlásili, že jsou zdraví. Cystatin C byl ve vzorcích analyzován na platformě AU 2700. Referenční interval byl vypočten neparametricky a stanoven na 0,53–1,01 mg/l. To představuje střední hodnotu 95 % testované populace. Doporučuje se, aby si každá laboratoř určila místní referenční interval, protože hodnoty se mohou v závislosti na testované populaci lišit.

## Výkonnostní charakteristiky

Všechny studie byly provedeny použitím jedné šarže reagensie v jediné laboratoři, pokud není uvedeno jinak.

## Přesnost

Imunotest Gentian Cystatin C byl použit ve 3denní studii přesnosti navržené podle protokolu CLSI EP5-A. Měření v systému Beckman Coulter® IMMAGE 800\* byly podrobeny hladiny ve čtyřech směsných sérech a 2 kontrolních materiálech.

ID	Střední hodnota (mg/L)	CV během měření (%)	CV celkem (%)	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

## Linearita

Imunoanalytická souprava Gentian Cystatin C byla použita ve studii linearity v systému IMMAGE 800, přičemž byl zaznamenán lineární rozsah 0,35–6,79 mg/l. Koncentrace mimo toto rozmezí nebyly testovány.

## Výtěžnost analýzy

Použitím imunoanalytické soupravy Gentian Cystatin C byla v systému Beckman Coulter® IMMAGE 800 zjištěna návratnost 100–110 %.

## Mez stanovitelnosti

Mez stanovitelnosti je definována takto: je to nejnižší aktuální množství analyzované látky, které lze nadějně zjistit a při kterém celková chyba nepřekračuje limitní požadavky na přesnost.

Pomocí analytické soupravy Gentian Cystatin C na přístroji IMMAGE 800, byla změněna dolní mez stanovitelnosti jako 0,24 mg/l.

## Bezpečnostní zóna

Ve studii na přístroji IMMAGE 800, se pomocí analytické soupravy Gentian Cystatin C bezpečnostní zóna pro přebytek antigenu prodloužila až na 43 mg/l.

## Interference

Ve studii nebyla zjištěna významná interference u vzorků cystatinu C s hemoglobinem (8 g/l), intralipidem (16 g/l) nebo bilirubinem (800 mg/l). Interferenční studie byla navržena v souladu s protokolem EP7-A z CLSI [7]. Jak zmiňuje publikace Sonntag a Scholer [8], v minulosti nebyly zjištěny žádné významné interference s testovanými léčivými. V imunotestu Gentian Cystatin C nejsou žádné interference, protože protilátky jsou vyrobeny pomocí ptačích protilátek (kuřecích) [9].

## Odchylna přístrojů

Odchylna přístrojů byla změněna mezi přístroji Gentian Cystatin C na IMMAGE a Hitachi 917 a výsledky byly analyzovány pomocí Passing-Bablokovy regresní analýzy:

Metody	N	Rozsah vzorků (mg/l)	Termín	Koeficient	95% interval spolehlivosti koeficientu
IMMAGE 800 vs. Hitachi 917	24	0,58–6,97	Úsek na ose souřadnic Sklon	0,08 1,01	0,05–0,11 0,99–1,03

## Dodatečné informace

Podrobnější informace o systémech IMMAGE® naleznete v příslušném manuálu k systému. Vzhledem k tomu, že společnost Beckman Coulter® činidlo nevyrábí ani neprovádí kontrolu kvality nebo jiné zkoušky jednotlivých šarží, nemůže být společnost Beckman Coulter® zodpovědná za kvalitu získaných dat, která je ovlivněna funkční charakteristikou reagensie, případnými rozdíly mezi šaržemi reagensie nebo změnami protokolu provedenými výrobcem.

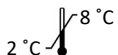
## Poškození při přepravě

Pokud jste tento produkt obdrželi poškozený, informujte prosím svého distributora. Pro technickou pomoc kontaktujte svého místního zástupce společnosti Beckman Coulter®. Jiné jazykové verze naleznete na webovém adrese: <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

## Seznam použitých symbolů

**LOT**

Číslo šarže



Teplotní limit



Datum spotřeby



Viz návod k použití



Výrobce

**REF**

Katalogové číslo

**IVD**

Zdravotnický prostředek pro diagnostiku  
*in vitro*



Pozor



Biologická rizika

## Použitá literatura

1. Abrahamson M. a kol.: Biochem J 1990; 268: 287–94.
2. Laterza O. F. a kol.: Clin Chem 2002; 48: 63–99.
3. Grubb A. O. Adv Clin Chem 2000; 35: 63–99.
4. Filler G. a kol.: Clin Biochem 2005; 38: 1–8.
5. Flodin M. a kol.: Scand J Clin Lab Invest 2007; 67: 560–567
6. Shlipak M. G. a kol.: Clinical Chemistry 57: 737-745, 2011
7. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
8. Sonntag O., Scholer A.: Ann Clin Biochem 2001; 38: 376–85.
9. Larsson A. a kol.: Poultry Science 1993; 72: 1807–1812.



**Gentian AS** **CE**

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norsko  
TEL: +47 99 33 99 05  
FAX: +47 69 24 09 62  
<http://www.gentian.com>

# Nastavení přístroje pro imunotest Cystatin C Immunoassay v systémech Beckman Coulter® IMAGE Systems\*(IMAGE 800)

## Strana 1

Název testu: cysx	Jednotka: mg/l
Číslo šarže reagensie: *	Protokol: Nekompetitivní NIPIA
Číslo zásobníku: **	Datum expirace reagensie: *
Číslo série reagensie: **	Testů na šarži: 40
AGXS Limit:	Aktivace AGXS:

## Strana 2

Pufr: BUF10	Ředidlo: DIL10
Objem vzorku: 5 µl	Ředění kalibrátoru: 1:1
Objem reakčního pufru: 0 µl	Ředění vzorku: 1:1
Objem reagensie A: 30 µl	Reakční doba: 5 minut
Objem reagensie B: 195 µl	

## Strana 3:

Hladiny: 6	Hladina kalibrátoru
Replikáty: 2	Hladina 1: *
Aktualizace hladiny: 3	Hladina 2: *
Replikáty: 2	Hladina 3: *
Typ kalibrace: polynom 3. stupně	Hladina 4: *
	Hladina 5: *
	Hladina 6: *

## Sklon a odchylka (v části „Reagensie a kalibrace“)

Faktor a (a·x + b): 1,10

Pufr z analytické soupravy Gentian Cystatin C přemístěte do oddílu B a imunočástice Gentian Cystatin C do oddílu A. Maximální objem oddílu „A“ a „B“ zásobníku UDR je 8,5 ml. Maximálně lze tedy do zásobníku vložit přibližně 40 testů.

\* Závisí na šarži

\*\* Definováno uživatelem